



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

Centro De Ciencias Básicas

Doctorado en Ciencias Biológicas

Tesis que presenta la M. en C. Argelia Calvillo Robledo para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Biológicas

**“METABOLISMO DE LOS ESTEROIDES SEXUALES EN
EL CÁNCER EPITELIAL DE OVARIO”**

Codirectores

Dr. Andrés Quintanar Stephano
Universidad Autónoma de Aguascalientes
aquinta@correo.uaa.mx

Dra. María del Carmen Méndez Herrera
Departamento Embriología y Genética
Universidad Nacional Autónoma de México
mendezmc@unam.mx

Asesor

Dr. Javier Ventura Juárez
Universidad Autónoma de Aguascalientes
jventur@correo.uaa.mx

Aguascalientes, Ags., a 16 de junio de 2020

Jorge Martín Alférez Chávez

DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como **Miembros del Comité Tutorial** designado del estudiante **ARGELIA CALVILLO ROBLEDO** con ID 121282 quien realizó el trabajo de tesis titulado: **METABOLISMO DE LOS ESTEROIDES SEXUALES EN EL CÁNCER EPITELIAL DE OVARIO** un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 21 de mayo de 2021.



Dr. Andrés Quintanar Stephano

Tutor de tesis



Dra. María del Carmen Méndez Herrera

Co-Tutora de tesis



Dr. Javier Ventura Juárez
Asesor de tesis

c.c.p.- Interesado

c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgr

Fecha de dictaminación dd/mm/aa: 31-may-21

NOMBRE: ARGELIA CALVILLO ROBLEDO

ID 12128

PROGRAMA: DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

LGAC (del
posgrado):

PROTEÍNAS EN LA RESPUESTA INMUNE Y LA SECRECIÓN NEURAL

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis

() Trabajo práctico

TITULO: METABOLISMO DE LOS ESTEROIDES SEXUALES EN EL CÁNCER EPITELIAL DE OVARIO

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):

CONTRIBUYE AL CONOCIMIENTO SOBRE EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

- SI El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
 SI La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
 SI Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
 SI Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
 SI Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
 SI El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
 SI Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
 NO Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

El egresado cumple con lo siguiente:

- SI Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
 SI Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
 SI Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
 SI Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
 SI Coincide con el título y objetivo registrado
 SI Tiene congruencia con cuerpos académicos
 SI Tiene el CVU del Conacyt actualizado
 SI Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados:

- SI Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
 SI El estudiante es el primer autor
 SI El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
 SI En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
 SI Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
 SI La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

Sí SI
No

FIRMAS

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

DR. DANIEL CERVANTES GARCÍA

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

DRA. ALMA LILIA GUERRERO BARRERA

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asignado por el Decano.

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

DRA. HAYDÉE MARTÍNEZ RUVALCABA

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. JORGE MARTÍN ALFEREZ CHÁVEZ

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

JOVR-D-21-00105R1

Simultaneous expression of steroid sulfatase and androgen receptor reduces overall survival of patients with epithelial ovarian tumors

Argelia Calvillo-Robledo; Enrique Pedernera; Flavia Morales-Vásquez; Delia Pérez-Montiel; María J Gómora; Miguel Ángel Almaraz; Paulina García de Alba Graue; Elizabeth Rendón; Horacio Noé López-Basave; Andrés Quintanar-Stephano; *Carmen Méndez*
Journal of Ovarian Research

I am pleased to inform you that your manuscript "Simultaneous expression of steroid sulfatase and androgen receptor reduces overall survival of patients with epithelial ovarian tumors" (JOVR-D-21-00105R1) has been accepted for publication in Journal of Ovarian Research.

Before publication, our production team will check the format of your manuscript to ensure that it conforms to the standards of the journal. They will be in touch shortly to request any necessary changes, or to confirm that none are needed.

Any final comments from our reviewers or editors can be found, below. Please quote your manuscript number, JOVR-D-21-00105R1, when inquiring about this submission.

We look forward to publishing your manuscript and I do hope you will consider Journal of Ovarian Research again in the future.

Best wishes,

Desmopressin inhibit the proliferation and cellular migration in the OV-90 ovarian cancer cell line

Argelia Calvillo-Robledo, Zaira Samantha González-Sánchez, Fernando Valdez-Urias, María José Gómora-Herrera, Andrés Quintanar-Stephano*

First published: 19 April 2020 | <https://doi.org/10.1096/fasebj.2020.34.s1.06935>

 TOOLS  SHARE

Abstract

Epithelial ovarian cancer (EOC) is the most common and lethal of the ovarian neoplasms, frequently it is detected at advanced stages of the disease resulting in 60–70% of the cases in recurrence and less responsive to chemotherapy. Currently the role played by the neurohypophyseal hormone arginine vasopressin (AVP) and its receptors in the development of EOC is unknown. The purpose of this study was to evaluate the action of desmopressin (DDAVP), an AVP V2 receptor agonist on the cell proliferation and cell migration in cells from the OV-90 cell line. Cell proliferation was evaluated with the proliferation marker Ki67, whereas the cells migration was evaluated by the wound assay. The AVP V1a and V2 receptors expression were assessed by immunofluorescence. Cell cultures were stimulated during 12, 24, 36 and 48 hours with DDAVP (500 to 1500 mM). In order to discard the cytotoxicity of DDAVP on the OV-90 cell cultures in control and stimulated cultures the Cytotox 96 kit was used. The experiments were performed three times by duplicate. The results showed that the expression of AVP V1a and V2 receptors are present in both DDAVP stimulated and-non stimulated cultures. On the other hand in comparison with the control cultures, doses of 1000mM of DDAVP significantly ($p<0.05$) inhibit both cell proliferation and cellular migration. Present results also suggests a possible inhibitory role of DDAVP on proliferation and cellular migration in the OV-90 cell lines of epithelial ovarian cancer.

Support or Funding Information

Universidad Autónoma de Aguascalientes PIFF14-1 and CONACYT 221262. México

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes al doctorado en Ciencias Biológicas de la UAA el cual pertenece al padrón de posgrados de excelencia (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), asimismo, agradecer a esta dependencia por el otorgamiento de una beca para la realización de este trabajo con número de CVU 616297.

Al Dr. Andrés Quintanar Stephano a cargo del laboratorio de Neuroinmunoendocrinología con Proyecto de Investigación UAA-PIFF19-2 y CONACyT 221262, al cual agradezco su apoyo incondicional para la realización de este proyecto, por escucharme y guiarme en el camino, por inculcar en el grupo de laboratorio el compañerismo y por alentarnos siempre a ser mejores sin perder el rumbo.

Al Dr. Javier Ventura Juárez por su excelente calidad humana, por su ímpetu de ayudar en todo momento y colaborar siempre con la mejor disposición para que los estudiantes salgan adelante.

De igual manera, hacer una mención especial por el financiamiento del presente trabajo a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT IN221219 y PAPIIT IN218120, de igual manera, al laboratorio de Desarrollo Gonadal del Departamento de Embriología y Genética, a la Dra. María del Carmen Méndez Herrera, por ser siempre una guía para mí durante mi formación académica y sobre todo incitarme a ser mejor, admiro su disposición de colaborar con diversas instituciones con la finalidad de lograr un panorama alentador para las pacientes y sobre todo gracias a ella es que se lleva a cabo este proyecto de investigación; de igual manera, al Dr. Enrique Pedernera Astegiano, por transmitir su pasión por la investigación, por su responsabilidad como investigador y por promover el criterio científico hasta lograr la obtención de estudios de calidad.

A la Dra. Flavia Morales Vásquez, Oncóloga Médica por su compromiso de trabajo y apoyo en la obtención de muestras de tejido en el área de Patología Oncológica del Instituto Nacional de Cancerología.

De igual manera, al Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología de la Secretaría de Defensa Nacional (SEDENA), se hace mención especial por su valioso apoyo en la elaboración de este proyecto de investigación.

Al Dr. Antonio Villa Romero y a la M. en C. María José Gómora Herrera por su apoyo en el análisis estadístico.

Al Médico Cirujano Miguel Ángel Almaraz por su apoyo en la recolección de datos clínicos de las pacientes.

A la QFB Isabel Arce Camacho por su asesoría en bioseguridad para el manejo de las muestras biológicas

Al Psic. Esteban Mena por su colaboración en el diseño y captura de la información de la población estudiada.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mis padres Rosa Ma. Robledo García y Ramón Calvillo Cardona, quienes han sido mi soporte y admiración en todo momento, siempre estaré infinitamente agradecida con ellos por haberme brindado su apoyo y por haber forjado en mí el deseo de superación, además de alentarme a ser mejor persona y por ello agradezco la suerte de tenerlos a mi lado.

A mi tía y madre Silvia Hortensia Robledo García y a mi buen tío Gerardo Calvillo Cardona, sé que si estuviesen presentes el día de hoy estarían muy orgullosos y contentos de la persona que soy hoy en día, el destino nos separó, pero estoy segura de que en donde quiera que se encuentren tendrían una sonrisa en el rostro por verme culminar esta nueva etapa de mi vida, gracias por todas sus enseñanzas y el apoyo que me brindaron, por siempre los llevaré en mi corazón.

A mis hermanos Marcela Alejandra Calvillo Robledo y Ramón Calvillo Robledo, por apoyarme y estar ahí cuando los necesito y agradezco que seamos tan unidos en las buenas y en las malas.

A mi amigo y pareja Cuauhtémoc Cruz Valencia, por convertirse en la persona que siempre quise en mi vida, por apoyarme incondicionalmente en mis decisiones, por quererme, escucharme e impulsarme a ser mejor persona y luchar por lo que quiero, me has enseñado a crecer a tu lado y vivir las mejores etapas de mi vida.

A mi gran amiga María José Gómora Herrera, quien es pieza fundamental en este trabajo, a quien aprecio y quiero, es alguien a quien admiro por su peculiar característica de partirse en mil piezas sólo para ayudar a los demás, siempre voy a estar agradecida por sus atenciones y su apoyo dentro y fuera del laboratorio.

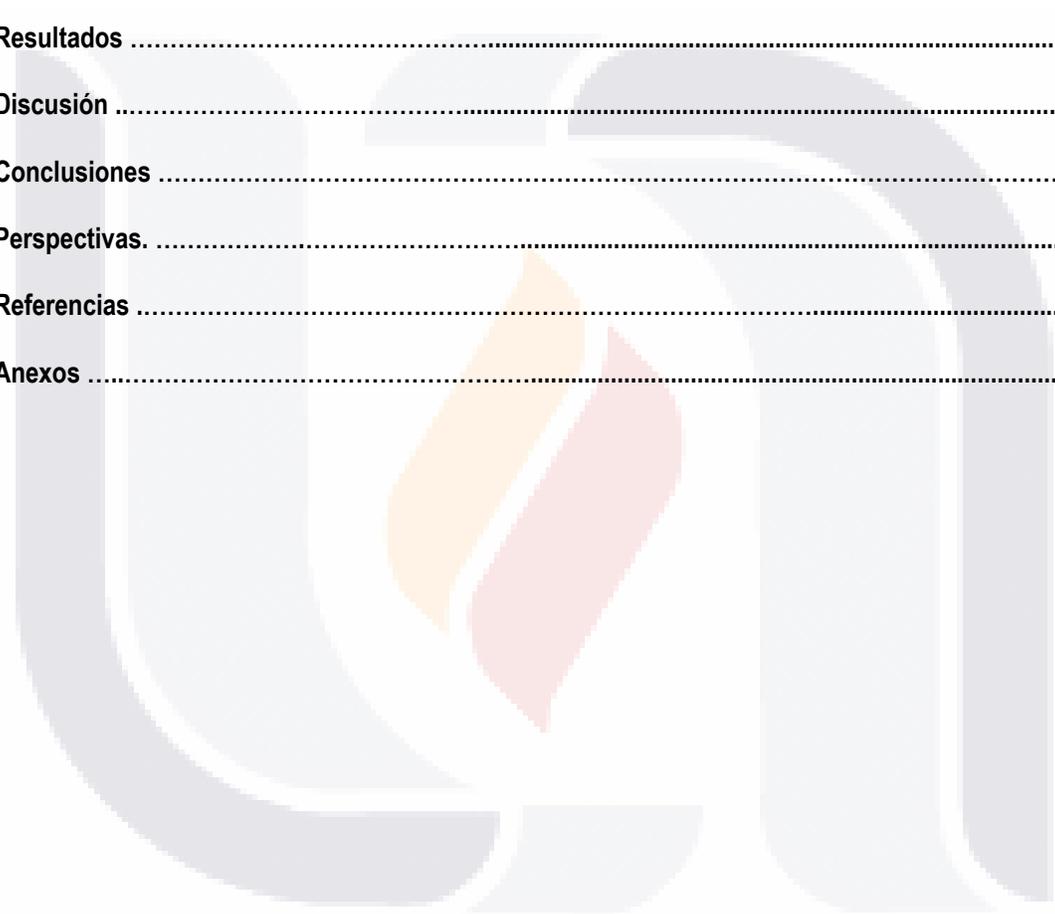
Como mención especial, quisiera dedicar este trabajo a todas las mujeres que brindaron su consentimiento para su realización, espero que en un futuro no muy lejano el desarrollo de este tipo de estudios sirva como referencia para la aplicación de estrategias eficaces y dirigidas, que brinden un mejor pronóstico y calidad de vida para estas pacientes.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Resumen	9
Abstract	10
Introducción	11
Clasificación del cáncer epitelial de ovario.....	12
▪ Tumores serosos limítrofes.....	12
▪ Carcinomas serosos de bajo grado (LGSC).....	13
▪ Carcinomas serosos de alto grado (HGSC).....	13
▪ Carcinomas endometrioides	15
▪ Carcinomas mucinosos	15
▪ Carcinomas de células claras.....	16
Factores de protección	17
Factores de riesgo	18
Etapas clínicas del cáncer epitelial de ovario.....	20
Esteroidogénesis de hormonas esteroides sexuales.....	21
Hormonas esteroides sexuales.....	21
▪ Progesterona	23
▪ Andrógenos	25
▪ Estrógenos.....	27
Desulfatación de hormonas	28

Enzimas esteroideogénicas	30
▪ P450arom	30
▪ 17β-HSD.....	31
▪ STS	32
Receptores de hormonas esteroideas sexuales.....	33
▪ Receptor de Andrógenos.....	35
▪ Receptor de Estrógenos	35
▪ Receptor de Estrógenos alfa.....	36
▪ Receptor de Estrógenos beta.....	37
▪ Receptor GPER1.....	37
▪ Receptor de Progesterona.....	39
Antecedentes.....	40
Síntesis de hormonas esteroideas en cáncer epitelial de ovario.....	41
Enzimas esteroideogénicas en cáncer epitelial de ovario.....	43
▪ P450 aromatasa en cáncer epitelial de ovario.....	43
▪ 17β-HSD en cáncer epitelial de ovario.....	44
▪ STS en cáncer epitelial de ovario	44
Receptores de hormonas esteroideas sexuales en cáncer epitelial de ovario.....	46
▪ Receptor de Andrógenos en cáncer epitelial de ovario.....	46
▪ Receptor de Estrógenos alfa en cáncer epitelial de ovario.....	47
▪ Receptor de Progesterona en cáncer epitelial de ovario.....	48
Planteamiento del Problema	49
Justificación	49
Pregunta de Investigación.....	50

Hipótesis	50
Objetivos	50
▪ Objetivo General	50
▪ Objetivos Específicos	50
Material y Métodos	51
Resultados	55
Discusión	69
Conclusiones	73
Perspectivas.	74
Referencias	75
Anexos	85



ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Página
Tabla 1. Etapificación del cáncer epitelial de ovario según la FIGO.....	19
Resultados	
Tabla 1. Características clínicas de las pacientes con CEO en cada subtipo histológico.....	55
Tabla 2. Frecuencia de las enzimas esteroideogénicas y de los receptores de hormonas esteroides sexuales en tumores epiteliales de ovario	58
Tabla 3. Frecuencia de enzimas esteroideogénicas y receptores de hormonas esteroides sexuales por subtipo histológico.....	59
Tabla 4. Coeficientes de correlación de Spearman entre las enzimas esteroideogénicas	61
Tabla 5. Coeficientes de correlación de Spearman entre los receptores de hormonas esteroides.....	62
Tabla 6. Riesgo proporcional entre la presencia de las enzimas esteroideogénicas, receptores de hormonas esteroides sexuales y factores clínicos.	65
Tabla 7. Riesgo proporcional para la sulfatasa de esteroides en pacientes estratificadas por la presencia de receptores esteroides en los tumores epiteliales de ovario.	67

ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Incidencia de cáncer de ovario a nivel mundial.....	10
Figura 2. Esquema representativo del origen de tumores serosos de alto grado.....	13
Figura 3. Principales subtipos de tumores epiteliales de ovario.....	15
Figura 4. Esquema representativo de los factores de riesgo y protección contra el cáncer epitelial de ovario	18
Figura 5. Esquema de las vías de la esteroidogénesis del estradiol	21
Figura 6. Metabolismo hormonal del endometrio por acción de la progesterona.....	23
Figura 7. Biosíntesis de progesterona a partir de colesterol.....	24
Figura 8. Conversión enzimática de andrógenos por las vías $\Delta 4$ y $\Delta 5$	25
Figura 9. Conversión enzimática de andrógenos a estrógenos por la P450arom.....	27
Figura 10. Vías preferentes de sulfatación y desulfatación en la mujer.	28
Figura 11. Estructura clásica de receptores de hormonas esteroides sexuales.....	32
Figura 12. Vía de señalización de hormonas esteroides sexuales por la vía canónica.....	33
Figura 13. Distribución de los receptores de estrógenos en el organismo.....	37
Figura 14. Síntesis de estradiol a partir de precursores inactivos	40
Figura 13. Síntesis de estradiol en células tumorales de cáncer de ovario.....	41
Resultados	
Figura 1. Distribución histológica de tumores de ovario en población mexicana.	54
Figura 2. Inmunodetección de receptores de hormonas esteroides sexuales.....	56
Figura 3. Expresión de las enzimas P450arom, STS y 17β -HSD1 en carcinomas de ovario	57
Figura 4. Frecuencia de expresión de enzimas y receptores de hormonas esteroides en cada subtipo histológico.	58

Figura 5. Frecuencia de expresión de enzimas esteroidogénicas y de los receptores de hormonas esteroides.....	60
Figura 6. Kaplan-Meier análisis de sobrevida total en pacientes de acuerdo con la expresión de las enzimas esteroidogénicas.....	63
Figura 7. Análisis de sobrevida por Kaplan-Meier de acuerdo al grado de expresión de los receptores de hormonas esteroides sexuales.....	66



Acrónimos

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF1	Dominio de activación 1
AF2	Dominio de activación 2
AR	Receptor de andrógenos
ARID1A	AT-rich interacting domain containing protein 1A gene
BRAF	V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
BRCA 1	Cáncer de mama 1
BRCA2	Cáncer de mama 2
CA125	Prueba de antígeno de cáncer 125
CCC	Carcinomas de células claras
CEO	Cáncer epitelial de ovario
CYP11A1	Gen que codifica para la P450scc
CYP17	Gen que codifica para la 17 α hidroxilasa, 17,20 liasa
CYP19	Gen que codifica a la enzima aromatasa
DBD	Dominio de unión al ADN
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEAS	Dehidroepiandrosterona sulfato
DHT	Dihidrotestosterona
E1	Estrona
E1S	Estrona sulfato
E2	Estradiol
EC	Carcinomas de tipo endometrioide
EMT	Transición epitelio mesénquima
ER	Receptor de estrógenos
ERR α	Estrogen related receptor alpha
ER α	Receptor de estrógenos alfa
ER β	Receptor de estrógenos beta
ESO	Epitelio superficial del ovario
ESR1	Gen que codifica al ER α
ESR2	Gen que codifica al ER β
FIGO	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
FSH	Hormona foliculo estimulante
GPER1	G-protein coupled estrogen receptor 1
GS	Residuos ricos en glicina/serina
HGSC	Carcinomas serosos de alto grado
INEGI	Instituto Nacional E
KRAS	Homólogo del oncogén viral sarcoma 2 de rata Kirsten

LBD	<i>Dominio de unión al ligando</i>
LGSC	<i>Carcinomas serosos de bajo grado</i>
LH	<i>Hormona luteinizante</i>
MC	<i>Carcinomas de tipo mucinoso</i>
NADPH	<i>Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato</i>
NF- κ B	<i>Factor nuclear Kappa B</i>
NTD	<i>Dominio amino terminal</i>
OATPS	<i>Polipéptido transportador de aniones orgánicos</i>
P450arom	<i>Enzima aromatasa</i>
P450scc	<i>Enzima side chain cleavage</i>
p53	<i>Gen supresor de tumores codificada por TP53</i>
PPAR- γ	<i>Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma</i>
PR	<i>Receptor de progesterona</i>
PTEN	<i>Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa</i>
REL	<i>Retículo endoplasmático liso</i>
ROS	<i>Especies reactivas de oxígeno</i>
SLC	<i>Acarreador de anions orgánicos</i>
StAR	<i>Proteína reguladora esteroideogénica aguda</i>
STS	<i>Enzima sulfatasa de esteroides</i>
SULT	<i>Enzima sulfotransferasa</i>
TGF- β	<i>Factor de crecimiento transformante beta</i>
17 β -HSD	<i>Enzima 17-beta hidroxisteroide deshidrogenasa</i>
3 β -HSD	<i>Enzima 3-beta hidroxisteroide deshidrogenasa</i>
5-Diol-S	<i>Androstenediol sulfato</i>

Resumen

El cáncer de ovario ocupa el octavo lugar a nivel mundial en incidencia y mortalidad por neoplasia en la mujer. En México representa la segunda causa de muerte por cáncer ginecológico, su letalidad se debe a una detección tardía, sintomatología poco específica y quimioresistencia en el 75% de los casos. En la actualidad se busca determinar las causas que intervienen en el desarrollo de esta enfermedad, estudios previos han demostrado el papel de las hormonas esteroides sexuales y de sus receptores en el cáncer epitelial de ovario, no obstante, aún no está del todo claro en qué casos esta enfermedad podría comportarse como una neoplasia hormonodependiente. Asimismo, las enzimas relacionadas con el metabolismo de las hormonas esteroides sexuales podrían tener una participación crucial en la malignización de las células epiteliales del ovario, debido a que podrían estar utilizando diversos precursores en la síntesis de hormonas esteroides sexuales y con ello promover procesos celulares fundamentales para el crecimiento tumoral. El objetivo del presente estudio es evaluar la frecuencia de expresión del receptor de andrógenos, el receptor de estrógenos alfa, el receptor de progesterona y de las enzimas P450 aromataasa, la 17 β -hidroxiesteroidedeshidrogenasa y de la sulfatasa de esteroides en tumores de ovario y asociarlos a las características clínicas y a la sobrevida total de las pacientes para identificar su potencialidad como biomarcadores de pronóstico. Este es un trabajo retrospectivo con un tamaño de muestra de 154 tumores con diagnóstico anatomopatológico de cáncer epitelial, del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología de la SEDENA y del Instituto Nacional de Cancerología (INCan). El manejo de los tejidos fue de acuerdo con los protocolos establecidos para los bancos de tumores internacionales y fueron aprobados por los Comités de ética de las Instituciones y de los hospitales participantes. Los resultados obtenidos muestran que la edad de las pacientes, el estadio clínico avanzado y la expresión de la sulfatas de esteroides representan un peor pronóstico para las pacientes, debido a que se asocian a una menor sobrevida, asimismo, la expresión de esta enzima asociada a los receptores de andrógenos y progesterona son un factor de riesgo de muerte para las mujeres con cáncer epitelial de ovario.

Abstract

Ovarian cancer represents eighth place worldwide in incidence and mortality in women. In Mexico, it is the second most common cause of death from gynecological cancer, its fatality is due to the detection of ovarian cancer in advanced stages of the disease, nonspecific symptoms and chemoresistance in 75% of cases. Currently, it is crucial to determine the factors involved in the development of this disease, some studies have shown the key role of sex steroid hormones and their receptors in epithelial ovarian cancer, however, it is still not entirely clear in which cases it could be a hormone-dependent disease. As well as enzymes related to the metabolism of steroids hormones could play an important role in the malignancy of ovarian cancer epithelial cells, due they could be using steroidogenic precursors of the sex steroid hormone synthesis and promote diverse process in the tumoral growth. The aim of this project is to evaluate the expression of androgen receptor, estrogen receptor alpha and progesterone receptor, and the enzymes, P450 aromatase, 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase and steroid sulfatase in ovarian tumors and their clinic features with overall survival of the patients to identify their potentiality as prognostic biomarkers. This is a retrospective study that included a sample size of 154 tumors with an anatomopathological diagnosis of epithelial ovarian cancer obtained from the Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología of SEDENA and the National Cancer Institute (INCan). Tissue management was carried out following the protocols established for international tumor banks and was approved by the Ethics Committee of the Institutes and hospitals participants. The results have shown that the age of the patients, the advanced clinical stage and the expression of steroid sulfatase represent a poor prognosis for the patients, due to their association with lower survival, likewise, the co-expression between this enzyme associated with androgen receptor and progesterone receptor reflects a risk factor for death for women with epithelial ovarian cancer.

Introducción

El cáncer de ovario ocupa el octavo lugar en mortalidad por cáncer en la mujer y más del 75% de los casos son diagnosticados en etapas tardías de la enfermedad (Brett M. et al., 2017; Globocan, 2018) este tipo de neoplasia no refleja una sintomatología específica y suele estar asociado con otro tipo de enfermedades relacionadas al tracto gastrointestinal, tales como, síndrome de colon irritable, colitis e inflamación pélvica y en primera instancia las mujeres acuden con médicos generales, gastroenterólogos o ginecólogos que no están familiarizados con los síntomas de la enfermedad por lo que se retrasa el diagnóstico, cobrando a nivel mundial alrededor de 184,799 muertes anuales 295,414 fueron nuevos diagnósticos (Bray et al., 2018; Ferlay et al., 2015; Gallardo-Rincón et al., 2016). Entre los países que presentan una mayor incidencia se encuentran China, Estados Unidos y Canadá, precedidos por México, Colombia Uruguay y Australia, mientras que Brasil y Argentina son los países que presentan baja incidencia.

El cáncer de ovario de origen epitelial es el más frecuente, debido a que el 90% de los casos diagnosticados corresponden a este tipo de tumores, y su desarrollo es a partir del epitelio superficial del ovario, o del epitelio de las tubas uterinas (De León, 2011; Schüler et al., 2013; Shih et al., 2020).

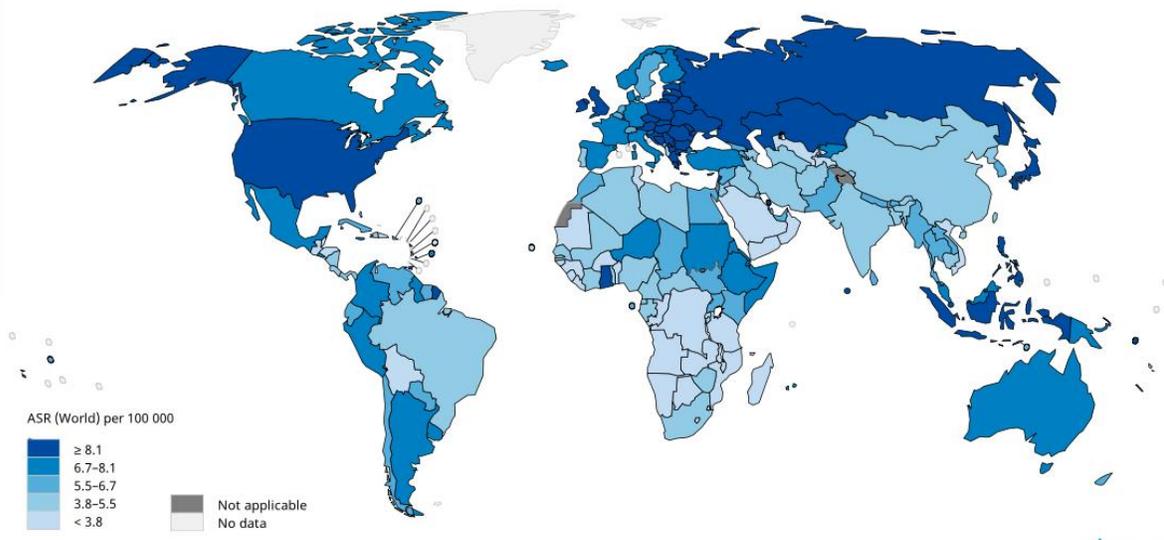


Figura 1. Incidencia de cáncer de ovario a nivel mundial. Tomado de: Lheureux et al., 2019.

Clasificación del CEO

La clasificación del cáncer epitelial de ovario se establece por tres principales criterios, el molecular, el genético y el histopatológico, siendo este el último el más utilizado debido a su practicidad de realización, además de implicar un menor costo económico. En la clasificación, se toman en cuenta las características histológicas del tejido, como estructura tisular, morfología epitelial, diferenciación celular, número de mitosis, atipias nucleares, infiltración linfocitaria, entre otras. Los principales subtipos histológicos que se presentan dentro de la población se categorizan de acuerdo a su incidencia, siendo los carcinomas serosos los más frecuentes dentro de estos tumores, los serosos de alto grado (HGSC) representan del 70%-80% de los casos, seguidos de los tumores endometrioides con un 10%, tumores células claras 10%, seroso de bajo grado (LGSC) en un 5-10%, y mucinosos con 3-4%, sin embargo, la incidencia de cada uno de estos varía de acuerdo a diversos factores tales como, país de origen, dieta, sedentarismo, etnia, etc. (Cho and Shih, 2009; Troisi et al., 2018).

Tumores serosos limítrofes

Este tipo de tumores no son considerados como tumores con “potencial maligno” debido a que la gran mayoría no presenta características invasivas a diferencia de otros tipos de carcinomas, son de pronóstico favorable para las pacientes que lo desarrollan, presentan alto porcentaje de células en mitosis y atipias nucleares, pese a que no son considerados como tumores de alto riesgo, cerca del 10% de esto puede desarrollar implantes en el peritoneo y puede dar origen a carcinomas serosos de bajo grado (LGSC por sus siglas en inglés), (Hauptmann et al., 2017; Prat, 2017a), asimismo, ambas entidades se han visto coexistiendo por lo que se les atribuyen diversas alteraciones compartidas en *KRAS* y *BRAF* en el 30% de los tumores serosos limítrofes (Hauptmann et al., 2017; Malek and Tchernitsa, 2013). La mayoría de los tumores serosos limítrofes, son quistes uniloculares o multiloculares con formaciones micropapilares, las cuales presentan estructuras complejas pero que mantienen su arquitectura tisular, presentan un epitelio que asemeja a las células secretoras de la trompa de Falopio (Hauptmann et al., 2017).

Carcinomas serosos de bajo grado

Este tipo de tumores corresponden al 5-10% de los tumores epiteliales de ovario, presentan papilas y al momento de su diagnóstico (Lheureux et al., 2019; Prat, 2017a), puede presentarse en uno o ambos ovarios, y son considerados como tumores que provienen de microinvasiones a partir de los tumores limítrofes, sin embargo, diversos estudios los catalogan como entidades diferentes, presentan mutaciones en *KRAS* y *BRAF* en un 19% y 38% respectivamente, asimismo, alteraciones en genes *ERBB2* han sido bien identificados, los cuales se han asociado a la vía de las MAPK relacionada con procesos de proliferación y migración celular (Shih et al., 2020; Vang et al., 2009), sin embargo, se desconoce porqué las pacientes con este tipo de mutaciones reflejan un mejor pronóstico (Lheureux et al., 2019).

Carcinomas serosos de alto grado

Los carcinomas serosos de alto grado (HGSC por sus siglas en inglés) son los que se presentan en mayor frecuencia, representan del 70%-80% de los tumores diagnosticados, y generalmente se detectan en etapas avanzadas de la enfermedad (Lheureux et al., 2019; Prat, 2017a) y al igual que en los tumores limítrofes y LGSC estos tumores se asemejan a tejido de la tuba uterina, presentan papilas y en su mayoría son sólidos, además de presentar gran cantidad de mitosis atípicas asociadas pleiomorfismos nucleares, estos carcinomas se asocian a mutaciones en genes relacionados con la reparación del DNA como es el caso de *BRCA 1* y *BRCA 2* del 15-20% de los casos, principalmente cuando hay antecedentes familiares, otro caso es el de *TP53* el cual se asocia a este tipo de tumor hasta en un 97% de los casos (Lheureux et al., 2019; Shih et al., 2020; Vang et al., 2009); a pesar de que los HGSC son caracterizados como carcinomas de ovario, se ha descrito que la mayoría de estos tienen un origen distinto, trabajos por (Kurman and Shih, 2010) aseguran que el origen de estos carcinomas es a partir de las fimbrias de la tuba de Falopio, a por lesiones precursoras denominadas como carcinomas intraepiteliales de la sera de la tuba (STIC por sus siglas en inglés) las cuales sufren cambios morfológicos y genéticos que tienen la capacidad de invadir el tejido ovárico al brindar un mejor microambiente para la sobrevivencia de las células tumorales (Prat, 2017a; Shih et al., 2020), asimismo, estudios por Visvanthan et al., 2018 describen el riesgo de desarrollar HGSC cuando están

presentes las STICs, no obstante, pese a que el origen de los carcinomas serosos de alto grado se relacionan con estas lesiones, se atribuye su formación a cambios en tumores serosos de bajo grado o a mutaciones propias del ESO que dan origen a los HGSC, los cuales reflejan un alto porcentaje de proliferación celular por Ki67 (Prat, 2017b; Shih et al., 2020).

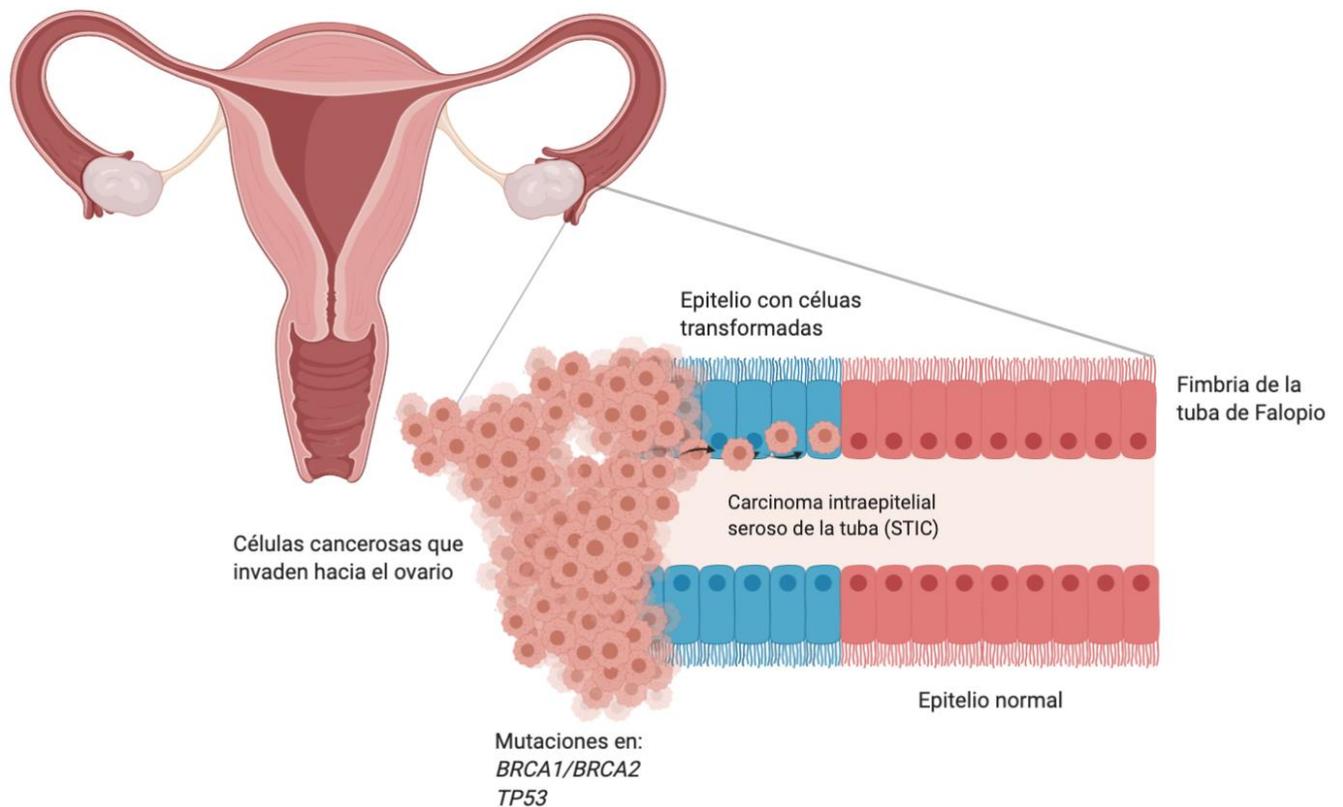


Figura 2. Esquema representativo del origen de los carcinomas serosos de alto grado a partir de lesiones precursoras provenientes de las fimbrias de la tuba de Falopio. Modif. de Shih et al., 2020.

Carcinomas endometrioides

Este tipo de tumores representa el 10% de los carcinomas de ovario, son quísticos o sólidos, y se han asociado a buen pronóstico en etapas tempranas de la enfermedad, se estima que el 28% de estos son de localización bilateral (Prat, 2017a, 2012), se han asociado a padecimientos como síndrome de Lynch y a endometriosis en el 42% de las pacientes, asimismo, su origen puede ser derivado de cáncer de endometrio en el 20% de los diagnosticados, a diferencia de los LGSC y HGSC este tipo de carcinomas se asocia con mutaciones en genes relacionados con las vías WNT/ β -catenin and PI3K/PTEN en el 20% (Lheureux et al., 2019; Prat, 2017a), por otro lado, mutaciones en *ARID1A* se han asociado tanto en carcinomas endometrioides como en carcinomas de células claras (Kurman and Shih, 2008).

Carcinoma mucinoso

Estos tumores representan del 3-4% de los casos diagnosticados, pueden ser clasificados en tumores mucinosos limítrofes y carcinomas mucinosos (Hauptmann et al., 2017; Lheureux et al., 2019), el primer tipo corresponden a tumores con bajo nivel invasivo, de superficie lisa, presentan múltiples regiones quísticas, y en el interior de sus células gran cantidad de mucosidad, lo cual se asemeja a epitelio cilíndrico de tipo gastrointestinal, presenta núcleos basales; y la sobrevida de las pacientes diagnosticadas con tumores mucinosos de tipo limítrofe es favorable cuando son detectados en estadio clínico I, sin embargo, tanto los de tipo limítrofe como los carcinomas mucinosos pueden coexistir dentro del mismo tumor (Hauptmann et al., 2017; Prat, 2017a), lo cual promueve su invasión y malignidad, son altamente infiltrantes y presentan mutaciones en *KRAS* en el 92% de los tumores limítrofes mucinosos y 64% en los carcinomas mucinosos en el caso de estos últimos, presentan un panorama alentador cuando son diagnosticados en estadios tempranos de la enfermedad y de localización unilocular, sin embargo, el pronóstico de las pacientes es bajo al ser diagnosticadas en etapas tardías, y se asocian a mutaciones en *TP53* en el 68% y *Her2* en el 18% de los casos (Lheureux et al., 2019; Prat, 2017b).

Carcinoma de células claras

Su incidencia es del 5%, sin embargo, en países como Japón puede presentarse en el 25% de los casos, son tumores por lo general sólidos y microscópicamente presentan un núcleo claramente picnótico, citoplasma rico en glucógeno y bajo porcentaje de mitosis; aún no está del todo claro el origen de este tipo de tumores (Lheureux et al., 2019), sin embargo, se relacionan con el subtipo endometriodíe ya que comparten factores que involucran su desarrollo, como el síndrome de Lynch, endometriosis y mutaciones en *ARID1A* del 46-57% de los casos (Kurman and Shih, 2011; Wiegand et al., 2010a), por otra parte, se ha reportado la ausencia de expresión de PTEN en el 40%. Asimismo cambios en la expresión del factor nuclear 1beta del hepatocito (HNF-1 β), se encuentra elevado en este tipo de carcinomas, este factor se encuentra actuando principalmente en hepatocitos, participa en la síntesis de glucógeno en la fase tardía secretora del endometrio y durante la gestación además de estar participando en la regulación de genes y proteínas relacionadas con la carcinogénesis de este tipo de tumores como anexina 4 relacionada con la resistencia al paclitaxel (Prat, 2017b).

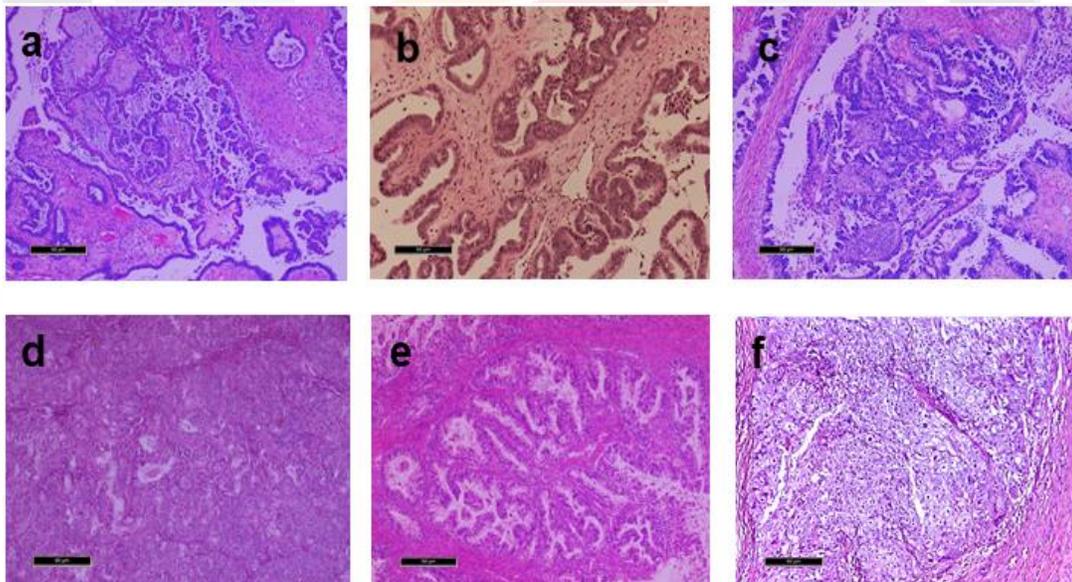


Figura 3. Cortes transversales de tumores de ovario, teñidos con Hematoxilina y Eosina. **a)** tumor seroso limítrofe **b)** carcinoma seroso de bajo grado **c)** carcinoma seroso de alto grado **d)** carcinoma endometriodíe **e)** carcinoma mucinoso **f)** carcinoma de células claras. Tomado y modificado de Morales-Vásquez F, et al., (2020) Expression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 is associated to the presence of androgen receptor in epithelial ovarian tumors. J Ovarian Res.

Factores de Protección

Existen diversos factores que se han relacionado como agentes protectores contra el desarrollo de cáncer de ovario, el embarazo y el uso de anticonceptivos hormonales, proceso que se ha asociado con una disminución en la tasa de mutaciones involucradas a procesos inflamatorios y formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) durante la menstruación; el embarazo brinda una protección de hasta un 40% (Kurman and Shih, 2008), otros procesos como el síndrome de ovario poliquístico el cual también se relaciona con la pérdida parcial de la menstruación no presenta el mismo efecto, debido a que se ha asociado como un factor de riesgo para el desarrollo de CEO por el aumento en los niveles séricos de andrógenos (Brett M. et al., 2017; Gibson et al., 2014; Modugno et al., 2012).

La lactancia también ha llegado a considerarse como un factor que brinda protección a la mujer, sin embargo, no está claro si la duración de lactancia tiene alguna implicación directa con la prevención de las mujeres en el desarrollo de CEO; esta información, sugiere que la participación de las hormonas sintetizadas durante el embarazo son las que juegan un papel importante en la disminución en el riesgo de desarrollar cáncer de ovario, tal es el caso que los anticonceptivos orales a base de progesterona, los cuales reducen el riesgo de padecerlo hasta en un 35%, asimismo, estudios sugieren que el periodo en la toma de los anticonceptivos también reduce el riesgo de desarrollar cáncer de ovario, de tal manera, que a un año posterior a su uso disminuye de 12%, sin embargo, mientras que a los 5 años posteriores de su uso es de 50% tanto en mujeres nulíparas como en mujeres que han tenido embarazos previos (Diep et al., 2015). Por otro lado, la ligadura en trompas de Falopio y la histerectomía han reflejado disminuir un 30% el riesgo a desarrollar cáncer de ovario, sin embargo, es evidente que falta esclarecer los mecanismos involucrados tanto en la protección como en el riesgo de desarrollar de CEO (Brett M. et al., 2017; Troisi et al., 2018).

Factores de Riesgo

Está claro que las hormonas esteroideas sexuales se asocian al desarrollo de CEO principalmente por la exposición prolongada a estradiol, como ocurre en la menarquía temprana y a la menopausia tardía o el uso de terapias de reemplazo hormonal (Ali, 2018; Salehi et al., 2008), se ha observado que, el síndrome de ovario poliquístico está asociado a concentraciones séricas elevadas de andrógenos, las cuales pueden desencadenar cambios en la síntesis y en la liberación de hormonas que podrían participar en la malignización del ESO; el cual se ha relacionado como un factor que pudiera estar promoviendo la carcinogénesis del ovario (Hart et al., 2004). Por otra parte, mutaciones en diversas proteínas se asocian como un riesgo elevado en su desarrollo, tal es el caso de mutaciones puntuales en *TP53* (Rose et al., 2003), al igual que en *BRCA1* y *BRCA2* (Pal et al., 2005; Bell et al., 2011), y de los genes de *BRAF* y *KRAS* se han asociado en pacientes con CEO del subtipo seroso de alto grado (Kurman and Shih, 2011), sin embargo, pese a que todos los subtipos de CEO son de naturaleza epitelial, se ha observado una clara divergencia genética en cuanto a las alteraciones estudiadas en cada subtipo histológico, tal es el caso de los carcinomas de ovario del subtipo endometriode y de células claras con mutaciones en *ARID1A* y *PTEN* (Kurman and Shih, 2011; Wiegand et al., 2010a), mientras que, en el caso del subtipo mucinoso de cáncer de ovario, a pesar de a su rara incidencia se han reportado mutaciones en *KRAS* hasta en un 50% de los casos relacionados a este tipo de tumores (Gemignani et al., 2003).

Asimismo, estudios recientes refieren que mecanismos endógenos, como el estrés oxidativo, promueven la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales juegan un papel importante en procesos de inflamación crónica e hipoxia celular, desencadenando múltiples efectos que promueven la transformación de células sanas a células cancerosas (Reuter et al., 2010; Wang et al., 2014).

En cáncer de ovario, se ha reportado que las ROS inducen cambios fenotípicos y modificaciones en las células tumorales, promoviendo procesos de invasión, angiogénesis y metástasis, estos mecanismos son regulados principalmente a partir de proteínas y factores de transcripción como NF- κ B, p53, PPAR- γ , β -catenin/Wnt, entre otros, los cuales, participan en la estimulación del sistema inmune y procesos pro-inflamatorios (Mantovani et al., 2008; Reuter et al., 2010).

Estudios realizados por Oshima y cols. (1994), encontraron que las células del sistema inmune, principalmente neutrófilos, participan en respuestas de inflamación, las cuales, promueven y aceleran el daño al ADN, además de incrementar la liberación de hidrocarburos aromáticos, induciendo daños celulares y tisulares; por tal motivo, se ha relacionado a las ROS como potenciales carcinogénicos, debido a su relación con diferentes procesos que promueven en ciertas estirpes celulares mecanismos como proliferación celular, supervivencia, migración celular y angiogénesis (Reuter et al., 2010).



Figura 4. Esquema representativo de los factores de riesgo y protección contra el cáncer epitelial de ovario.

Etapas clínicas del cáncer epitelial de ovario

De acuerdo con la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, (FIGO por sus siglas en inglés), los tumores ováricos se agrupan con base a su localización anatómica, estadio clínico y nivel de diseminación. La clasificación de esta enfermedad se agrupa en cuatro etapas principales, siendo la etapa I en la que se presentan los tumores menos diseminados, la masa tumoral se encuentra limitada en uno o ambos ovarios. En el caso de la etapa clínica II involucra ovarios y cavidad pélvica, la III, ovarios, cavidad pélvica, con implantes en el peritoneo y metástasis a nivel de nódulos linfáticos y la última etapa corresponde a la etapa clínica IV que es determinada cuando hay una metástasis a distancia a otros órganos (Zeppernick and Meinhold-Heerlein, 2014).

En la siguiente tabla se observa de manera detallada la etapificación del cáncer de ovario reportada por la FIGO (Tabla tomada de: Pereira et al., 2015; Stack and Fishman, 2010).

Etapa	Características de la etapa
I	Limitado a los ovarios.
IA	Limitado a un ovario, presenta cápsula intacta sin tumoración en la superficie del ovario y sin células malignas en líquido de ascitis o en lavados peritoneales.
IB	Limitado a ambos ovarios, cápsula intacta sin tumor en la superficie del ovario y sin células malignas en líquido de ascitis o en lavados peritoneales.
IC	Limitado a uno o ambos ovarios, presentando ruptura en la cápsula, tumoraciones presentes en la superficie del ovario, presencia de células malignas en líquido de ascitis o en lavados peritoneales.
II	El tumor involucra uno o ambos ovarios con extensión pélvica.
IIA	Extensión e implantes en útero o tubas, sin presencia de células malignas en líquido de ascitis o en lavados peritoneales.
IIB	Extensión a órganos pélvicos vecinos, sin presencia de células malignas en líquido de ascitis o en lavados peritoneales.
IIC	Presencia de células malignas en líquido de ascitis o en lavados peritoneales.
III	Se involucra uno o ambos ovarios con metástasis confirmada en cavidad peritoneal fuera de la cavidad pélvica con diseminación a nódulos linfáticos.
IIIA	Metástasis microscópica en peritoneo fuera de la pelvis.
IIIB	Metástasis microscópica en peritoneo fuera de la pelvis <2 cm de dimensión.
IIIC	Metástasis microscópica en peritoneo fuera de la pelvis >2cm de dimensión, con metástasis hacia nódulos linfáticos (Incluyendo nódulos inguinales) incluyendo la superficie de la cápsula del hígado.
IV	Metástasis distante más allá de la cavidad peritoneal, metástasis en hígado y efusión pleural.

Esteroidogénesis de hormonas esteroides sexuales

La biosíntesis de las hormonas esteroides sexuales se encuentra regulada en la mujer principalmente por dos vías, el ovario y la glándula suprarrenal, y durante el embarazo la placenta juega un papel importante en la síntesis y secreción de estas hormonas. La esteroidogénesis inicia a partir del colesterol (27C) el cual es transportado al interior de la mitocondria por la proteína StAR (proteína reguladora aguda esteroidogénica por sus siglas en inglés), en donde la molécula es cortada en su cadena lateral entre el carbono 20-22 por la enzima CYP11A1 o P450_{scc} (enzima de escisión de la cadena lateral, por sus siglas en inglés), (Andersen and Ezcurra, 2014; Hu et al., 2010) la cual biotransforma al colesterol en pregnenolona de (21C), que a su vez es convertida en 17 α -hidroxipregnenolona por la CYP17 o también conocida como 17 α -hidroxilasa, enzima que se convierte a pregnenolona debido a su propiedad de hidroxilasa y liasa, de esta manera al retirarse un grupo acetilo se forma dehidroepiandrosterona (DHEA), que por acción de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD) por la hidroxilación del carbono 17 se forma androstenediol de 19 carbonos, el cual será el sustrato de la enzima 5 α -reductasa que cataliza la conversión a androstenediona. Por otra parte, en el ovario la ruta alternativa que puede seguirse es la de la formación de progesterona o vía Δ 4 en la cual la pregnenolona es convertida a progesterona por la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) la cual sustituye el grupo hidroxilo por un grupo ceto en la posición 3 beta, para después poder ser convertida de progesterona a 17 α -hidroxiprogesterona por la CYP17, así mismo, la transforma en androstenediona y por la 17 β -HSD se forma la testosterona y por acción de la 5 α -reductasa se obtiene la dihidrotestosterona o DHT, la acción de la 5 α -reductasa es irreversible por lo cual desde este punto no puede llevarse a cabo la síntesis de estrógeno por tal motivo en la vía metabólica la androstenediona puede convertirse en estrona (E₁) por acción de la P450_{arom} o aromatasa y la E₁ a su vez en estradiol 17 β estradiol (E₂) por la 17 β -HSD1, o bien, directamente por acción de la P450_{arom} la testosterona pueda ser convertida a 17 β estradiol Fig 5. (Miller, 2008).

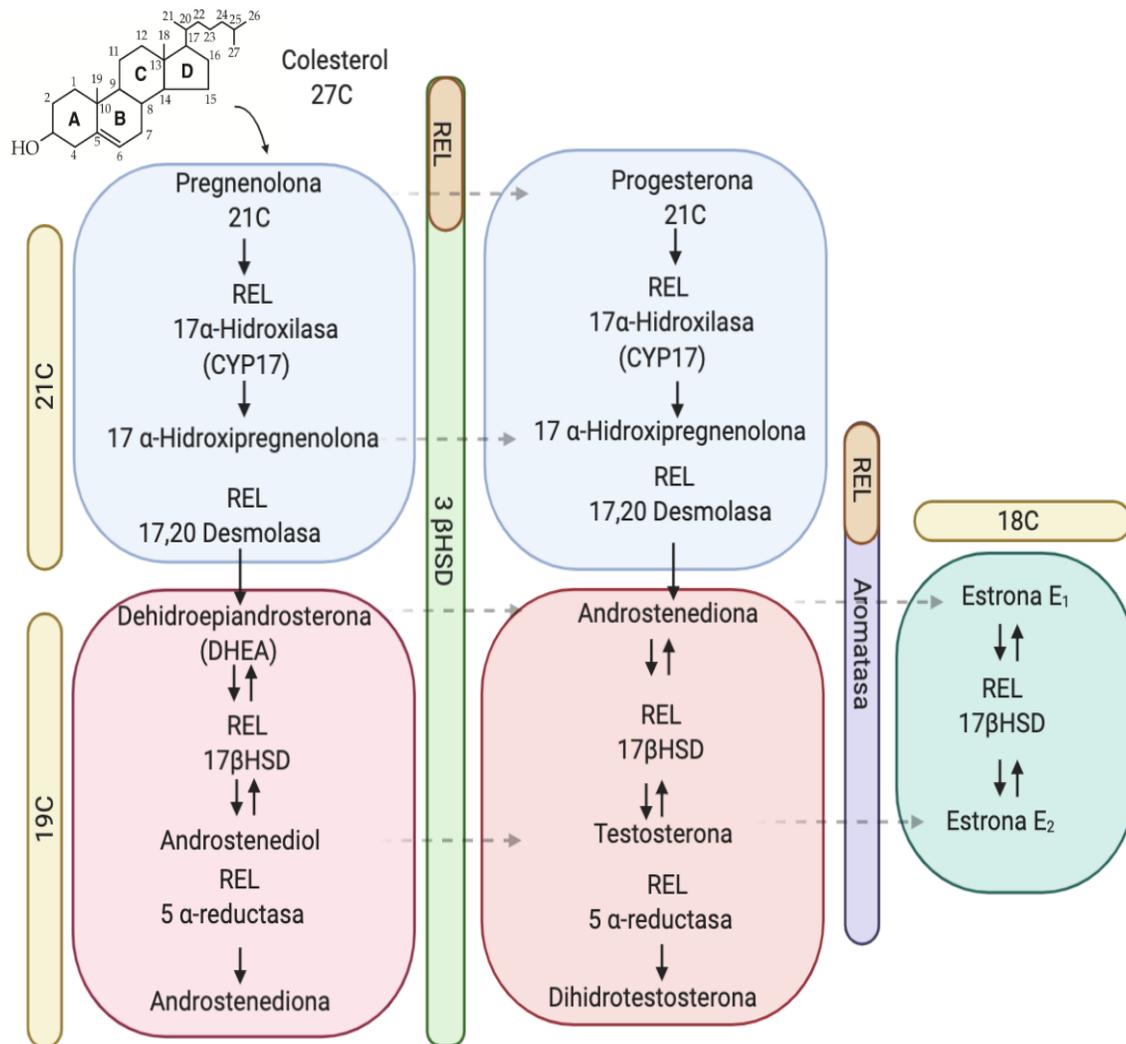


Figura 5. Esquema de las vías de la esteroidogénesis del estradiol a partir del colesterol como principal precursor.

Hormonas Esteroides Sexuales

Las hormonas esteroides se clasifican en cinco clases principales, mineralocorticoides, glucocorticoides, progestágenos, andrógenos y estrógenos, siendo estos últimos tres, denominados como hormonas esteroides sexuales, debido a su participación en procesos de diferenciación sexual, desarrollo de caracteres sexuales primarios y secundarios, y control de ciclos reproductivos, principalmente, sin embargo, también están involucradas en funciones que involucran el metabolismo, mantenimiento óseo, control hídrico, gestación, estrés, entre otros (Hu et al., 2010); su síntesis es a partir del colesterol como su principal precursor, y su acción se lleva a cabo principalmente en órganos y tejidos blancos, especialmente en glándulas, como en la corteza de la glándula suprarrenal, en células de Leydig en el testículo, en ovarios en células de la teca y granulosa y en la placenta durante la gestación (Finco et al., 2015).

Progesterona

La progesterona tiene una estructura de 21 átomos de carbono, es el sucesor más próximo del colesterol, se obtiene al cortar la cadena lateral de la estructura de colesterol entre el carbono 20, 22 por la enzima CYP11A1 o también conocida como citocromo P450 scc (Payne and Hales, 2004); esta hormona es secretada por el cuerpo lúteo que resulta del folículo ovárico, participa principalmente en procesos reproductivos de la mujer, durante la fase secretora en el endometrio, es sintetizada principalmente por el cuerpo lúteo durante cada ciclo reproductivo, sin embargo, durante el embarazo, su principal fuente de producción es en la placenta, impide las contracciones uterinas durante la gestación, lo cual promueve la sujeción del producto, asimismo, actúa en el desarrollo y mantenimiento de la glándula mamaria, así como en el cérvix, vagina y endometrio (Strauss and Barbieri, 2013), siendo el endometrio uno de los tejidos que presenta mayores cambios durante el ciclo reproductivo mediados por la progesterona y la participación de enzimas como la 17β -HSD, sulfatasa de esteroides y sulfotransferasa. Durante la fase secretora del endometrio, se producen cambios principalmente en la síntesis de estradiol, inducidas por la acción reguladora de la progesterona y de enzimas como 17β -HSD8 17β -HSD4 y 17β -HSD2, siendo principalmente esta última isoforma la que tiene mayor actividad en la conversión estradiol a estrona, asimismo, la progesterona actúa promoviendo la inactivación del

estradiol debido a que aumenta la actividad de la sulfotransferasa y con ello la sulfatación del estradiol, de esta manera se inicia el cambio entre la fase secretora mediada principalmente por estradiol y la fase proliferativa por progesterona (Fig. 6). Sin embargo, cambios o alteraciones en el equilibrio del ciclo del endometrio, promueven el desarrollo de patologías como endometriosis debido a un desbalance entre la síntesis de hormonas como estradiol y un incremento en la actividad y transcripción de enzimas relacionadas en el metabolismo del mismo, como la 17 β -HSD1 y la aromatasa, asimismo, se ha demostrado que las células obtenidas de tejido endometriósico no expresan 17 β -HSD2 la cual se encuentra mediada por progesterona lo cual promueve la acción de los estrógenos y con ello el desarrollo de tejido endometrial ectópico (Strauss and Barbieri, 2013), este tipo patología ha sido asociada en carcinomas de endometrio y en ovario, siendo en este último al que se visto relacionada la endometriosis con los subtipos histológicos de células claras y endometriode (Wiegand et al., 2010a; Yu et al., 2015).

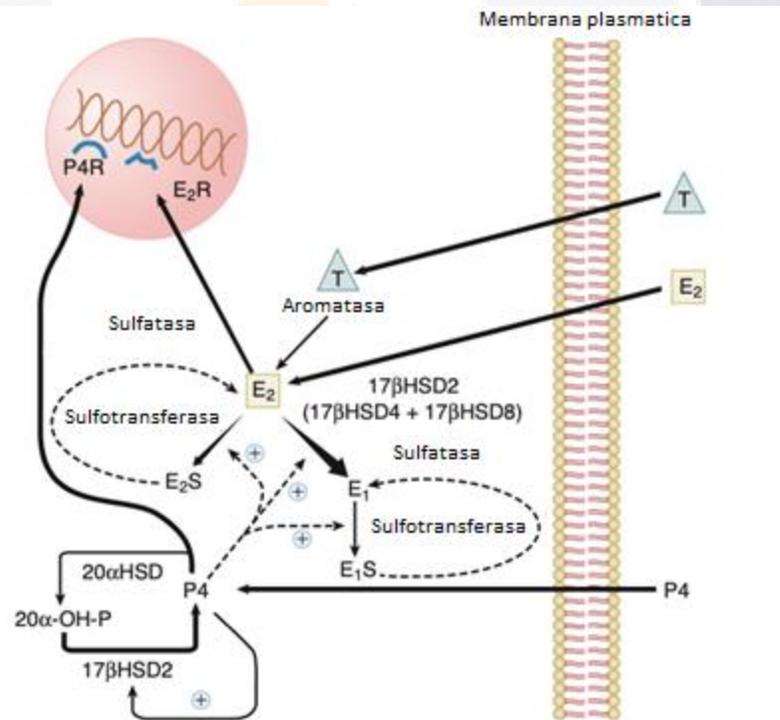


Figura 6. Metabolismo hormonal del endometrio. Se muestra la biotransformación del estradiol a hormonas sulfatadas mediadas por la acción de la progesterona sobre la estimulación de las enzimas, 17 β -HSD2, 17 β -HSD4, 17 β -HSD8 y la sulfotransferasa. Tomado de Strauss and Barbieri, 2013.

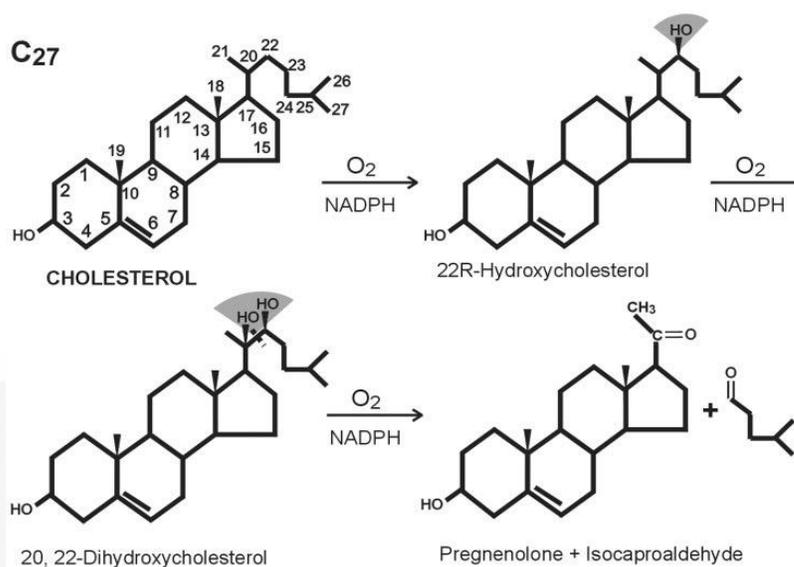


Figura 7. Biosíntesis de progesterona a partir de colesterol. La reacción enzimática está representada por la enzima CYP11A1 (P450_{scc}), en el esquema se observa la escisión de seis carbonos de la cadena lateral del colesterol, se observan tres oxidaciones secuenciales las cuales requieren la liberación de una molécula de oxígeno y una molécula reducida de NADPH (Payne and Hales, 2004).

Andrógenos

Los andrógenos son considerados como hormonas masculinizantes, debido a que sus concentraciones se encuentran en niveles más elevados en varones que en mujeres, además de que son las principales hormonas encargadas en la diferenciación sexual de órganos internos y externos durante la gestación y la aparición de caracteres sexuales en el hombre. En la mujer, los andrógenos varían dependiendo del ciclo reproductivo de la mujer, una vez se inicia la pubertad, las principales fuentes de andrógenos son la androstendiona, testosterona y DHT, son producidos en su mayoría por glándulas suprarrenales y ovarios, sin embargo, una vez llegada la menopausia la principal fuente de andrógenos son la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS), producidas en glándula suprarrenal. Los andrógenos actúan en el desarrollo folicular, promueven el crecimiento y adecuado funcionamiento del útero y participan en el desarrollo de glándula mamaria una vez inicia la pubertad (Walters, 2015), sin embargo, a pesar de que la principal función reproductiva está regulada por estrógenos, progesterona y hormonas hipofisarias como la hormona foliculo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), un desbalance en la síntesis de andrógenos

puede promover alteraciones en el ciclo reproductivo de la mujer, tal es el caso del síndrome de ovario poliquístico, el cual se relaciona con un alto nivel de andrógenos en circulación sanguínea, esta alteración hormonal además de asociarse con anovulación e infertilidad, promueve un desequilibrio metabólico relacionado con obesidad, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 y problemas cardiovasculares (Walters, 2015), asimismo, tanto los andrógenos como su receptor se han visto asociados con procesos carcinogénicos en el ovario, los cuales han relacionado el incremento de andrógenos con el desarrollo de cáncer epitelial de ovario (Gibson et al., 2014; Modugno et al., 2012; Olsen et al., 2008).

Los andrógenos son sintetizados en las células de la teca interna del folículo ovárico a partir de pregnenolona adquirida de la biosíntesis del colesterol (Burger, 2002), la enzima que se encarga de esta biotransformación es la CYP17 (17 α -hidroxilasa/17,20 desmolasa); existen dos reacciones principales por las cuales la enzima puede actuar por hidroxilación en el C21, la primera es la vía $\Delta 4$ la cual corta entre el carbono 17-20 para la obtención de 19C, produciendo androstenediona y la vía $\Delta 5$ la cual da origen a dehidroepiandrosterona (Payne and Hales, 2004).

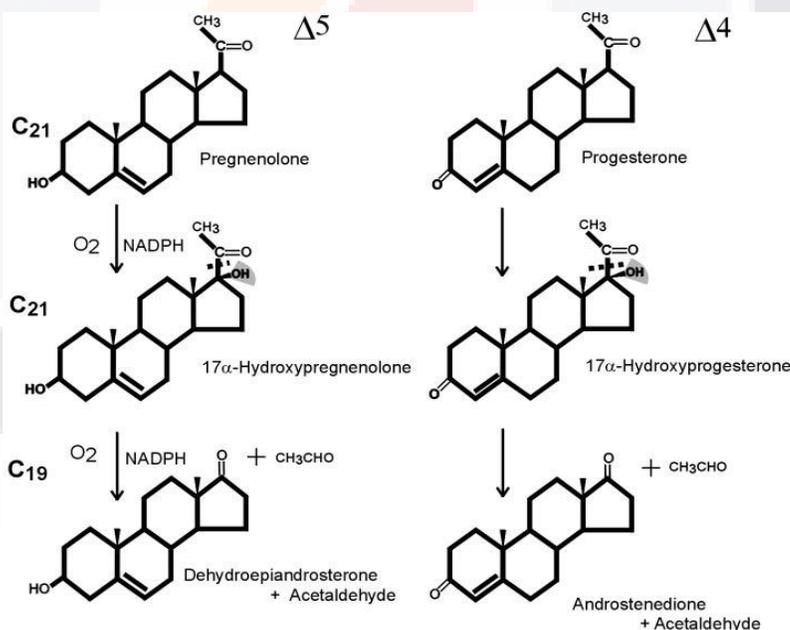


Figura 8. Conversión enzimática de andrógenos por las vías $\Delta 4$ y $\Delta 5$. Se observan dos reacciones de oxidación diferentes dadas por la CYP17, en la figura se observa la hidroxilación en el C17 por la 17 α -hidroxilasa y la ruptura en el C17-20 por la 17,20 desmolasa, que resultan por la vía $\Delta 4$ androstenediona y por la $\Delta 5$ DHEA (Payne and Hales, 2004).

Estrógenos

Los estrógenos participan en funciones relacionadas con el desarrollo y funcionamiento del sistema reproductivo femenino, debido a que interviene en la foliculogénesis, en la etapa proliferativa en el endometrio, así como cambios cíclicos en ovarios, cuello uterino y vagina (Boron and Boulpaep, 2012; Strauss and Barbieri, 2013) su síntesis presenta diversos cambios a lo largo de la vida de la mujer, principalmente durante el inicio de la pubertad, el embarazo y al comienzo de la menopausia, etapas que se caracterizan por la producción predominante de alguno de ellos, en la pubertad, el principal estrógeno producido es el 17β estradiol, considerado como el de mayor actividad biológica, es sintetizado por las células de la granulosa en el folículo ovárico y cuerpo lúteo en menores cantidades, mientras que elestretrol, es sintetizado por el hígado del feto durante la gestación y retorna a la madre por medio de circulación placentaria, el estriol es sintetizado por la placenta durante el embarazo, mientras que al inicio de la menopausia, los niveles de estrógenos disminuyen más del 90%, siendo la estrona el estrógeno que mayormente se detecta en circulación sanguínea, este puede metabolizarse a 17β estradiol por acción de la 17β -HSD1 en tejidos periféricos (Fuentes and Silveyra, 2019; Labrie, 2015; Strauss and Barbieri, 2013). Es importante señalar que el papel de los estrógenos es altamente variable, ya que interviene en el mantenimiento óseo, en piel, hígado, tejido adiposo, cerebro y glándula mamaria, movilización del colesterol, etc., asimismo, esta hormona se ha relacionado a enfermedades autoinmunes como esclerosis múltiple, lupus y artritis reumatoide (Cutolo et al., 2006; Findlay et al., 2010; Hayes and Spanier, 2017). Además, la acción de ciertas enzimas relacionadas con la esteroidogénesis del estradiol principalmente la 17β -HSD1 y la aromataasa se han visto asociadas con mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, endometrio y ovario, ya que se han relacionado con un incremento significativo de los niveles de estrógenos, los cuales se han visto relacionados con procesos de proliferación celular, migración, invasión, etc. (Heldring et al., 2007; Lupu and Menendez, 2006).

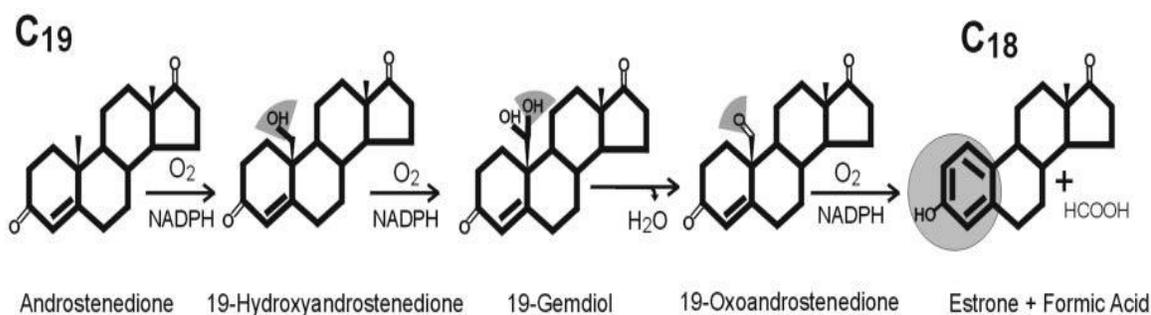


Figura 9. Conversión enzimática de andrógenos a estrógenos por la P450arom. Se obtiene estrona a partir de la utilización de androstenediona como sustrato, la reacción requiere tres moléculas de oxígeno y NADPH, la principal característica que presentan los estrógenos es la aromatización del anillo A (Payne and Hales, 2004).

Desulfatación de hormonas esteroides

Las células llevan a cabo la sulfatación de esteroides, proceso que permite realizar diversos mecanismos como, transporte transmembranal, paso libre a circulación sanguínea o bien para lograr su fácil excreción, permitiendo de esta manera el equilibrio del sistema endócrino. El proceso de sulfatación tiene lugar en órganos blanco tales como, placenta, testículos, ovarios, riñón, cerebro, páncreas, hígado, suprarrenales, etc., los cuales, tienen la maquinaria enzimática necesaria para llevar a cabo esta biotransformación (Figura 12) (Mueller et al., 2015). Tanto la sulfatación como la desulfatación, son procesos reversibles, la segunda, se inicia una vez que las hormonas sulfatadas son acarreadas al interior de la célula blanco a través de transportadores específicos, tales como los OATPs (polipéptido de transporte de aniones orgánicos, por sus siglas en inglés) y los SLCO (acarreadores de solutos para aniones orgánicos) (Purohit et al., 2011), una vez en el interior de la célula, se hidrolizan y esterifican a partir de los grupos sulfatos para dar origen a grupos alquilo, y los ester de esteroides en sus formas no conjugadas para originar esteroides activos, tanto en DHEA como E₁ este proceso se lleva a cabo en el carbono tres del anillo A, ambas hormonas esteroides son las que mayormente se desulfatan debido a que son las más abundantes en la circulación sanguínea (Mueller et al., 2015; Reed et al., 2005), no obstante, el colesterol sulfato y la pregnenolona sulfato también son sustratos de la STS. Asimismo, la desulfatación tiene diversas implicaciones biológicas, debido a que el índice de sulfatación no es constante a lo largo de la vida difiere de acuerdo al sexo; en mujeres hay un incremento de la actividad de la STS en el primer trimestre del embarazo

comparado con aquellas no gestantes, y en varones la regulación de FSH estimula la acción de la enzima, por otra parte, durante la menopausia se refleja un incremento de este proceso especialmente en la vía $\Delta 5$ debido que es en glándula suprarrenal la encargada de la producción de precursores estrogénicos (Schiffer et al., 2019).

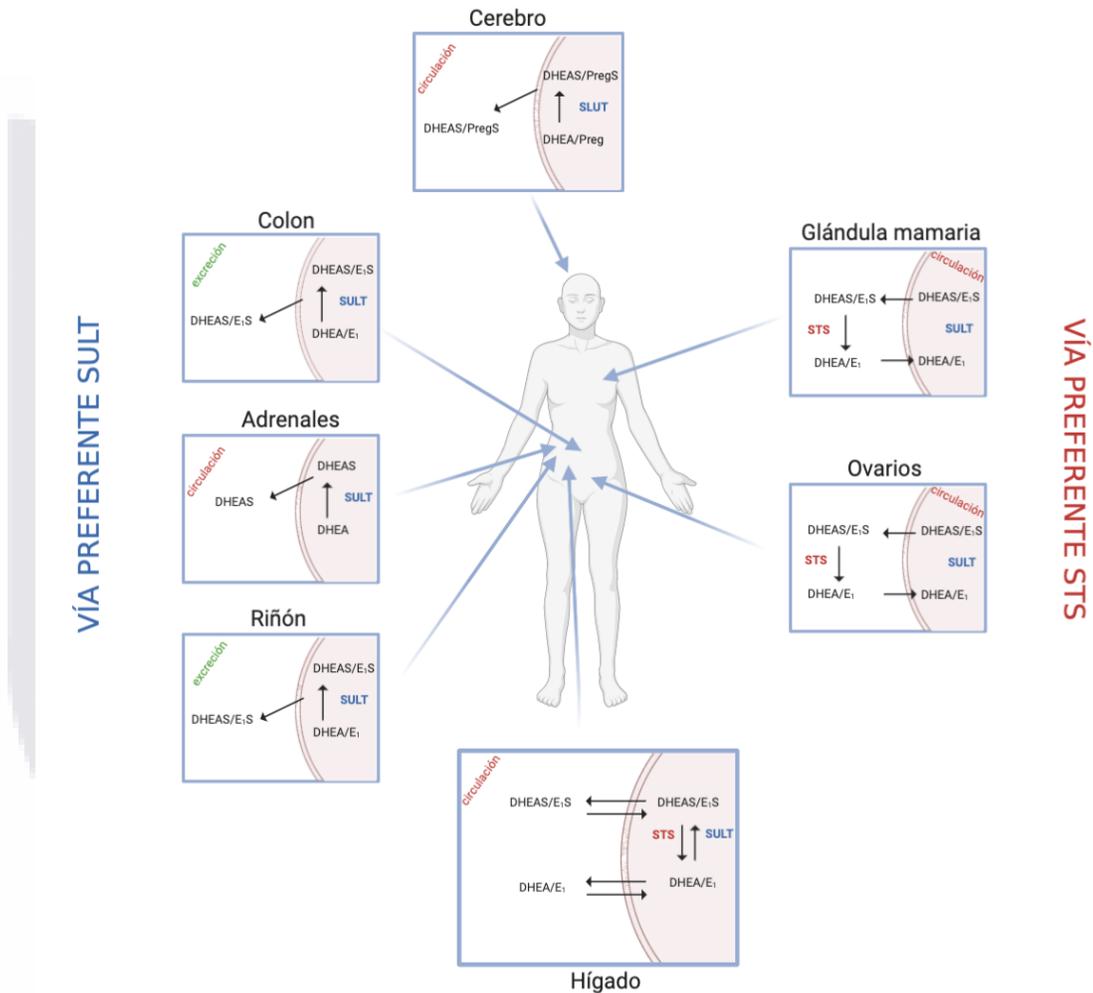


Figura 10. Vías preferentes de sulfatación y desulfatación en la mujer. Izq. Vía preferente de acción de la enzima sulfotransferasa (SULT), los principales órganos en los cuales domina la sulfatación es en cerebro, glándulas, adrenales colon y riñón, estos últimos participan principalmente en la excreción de hormonas sulfatadas, mientras que los otros órganos presentan en su mayoría hormonas sulfatadas en circulación principalmente en forma de reservorio. La desulfatación es predominante en mama, ovarios, útero y placenta, en ovarios y glándula mamaria las hormonas sulfatadas pasan al interior de la célula a través de transportadores OATPs y SLCO, en donde por acción de la STS se llevan a cabo hidroxilaciones que permiten la esterificación de las hormonas y con ello su subsecuente activación, en la mayoría de las veces esta acción da lugar a precursores estrógenicos, los cuales llegan a ser los más importantes una vez que se llega a la menopausia (Modif. de Mueller et al., 2015).

Enzimas esteroideogénicas asociadas a la síntesis del estradiol

Enzima P450 aromatasa

El complejo enzimático P450arom, pertenece a la familia de los citocromos P450, su nombre es debido a que son capaces de absorber longitudes de onda a 450nm, esta enzima está codificada por el gen *CYP19*, se encuentra distribuida entre diversos grupos de vertebrados, en el ser humano su expresión ha sido reportada en el cerebro, tejido adiposo, placenta, ovario (Blakemore and Naftolin, 2016), su expresión y activación está mediada por acción de AMPc (Wang et al., 2015).

Esta enzima se encuentra involucrada en la biotransformación de los estrógenos, catalizando la aromatización del anillo A en la molécula, lo cual permite la formación del 17β estradiol como el estrógeno biológicamente más activo, con funciones importantes en el organismo. La aromatasa se ha visto implicada en el desarrollo de diversos tipos de cáncer, como en mama y ovario (Bowman et al., 2002; Bulun et al., 2009), actualmente se han desarrollado fármacos que inhiben la acción de la P450 arom, impidiendo la unión entre la enzima y su sustrato (Hong and Chen, 2011), el uso de este tipo de inhibidores han dado resultados favorables en pacientes con cáncer de mama utilizando anastrozole y letrozole como inhibidores no esteroideos, esto ha brindado resultados favorables, logrando una disminución de estradiol circulante del 95% en mujeres posmenopáusicas (Brodowska et al., 2014; Miller, 1999; Papadimitriou et al., 2004). Por otra parte, se ha visto la posible asociación en el incremento a padecer cáncer de mama debido al polimorfismo en genes que codifican para esta enzima (Farzaneh et al., 2016).

Enzima 17 β -HSD

Las enzimas relacionadas a las hidroxisteroides deshidrogenasas presentan una masa molecular 35-45kDa y median reacciones dependientes de NAD⁺ y NADP⁺ como cofactores (Miller, 2008), entre las enzimas más representativas que incluyen las hidroxisteroides deshidrogenasas se encuentran las de tipo mitocondrial y de retículo endoplasmático liso como son las 3 β HSD, o las isoenzimas relacionadas con la 17 β HSD, participan mediando reacciones reversibles de óxido-reducción, de tal manera que, catalizan reacciones de conversión a formas más activas a partir de grupos ceto a grupos hidroxilos, tal y como ocurre con la reacción de estradiol a partir de estrona (Olson et al., 2007). En la actualidad se han reportado quince isoenzimas relacionadas con la 17 β HSD (Lukacik et al., 2006), aquellas relacionadas con la conversión de E₁ a E₂ son la tipo 1, 5, 7 y 12, mientras que la 2,4,8,y 10 realizan la función opuesta (Mindnich et al., 2004; Wu et al., 2007). En el ovario participa en el metabolismo de estrógenos en el epitelio superficial de ovario, ya que se ha visto que estas células utilizan preferentemente la vía de la 17 β HSD utilizando a la androstenediona como sustrato, asimismo, se ha reportado que la participación de diversas isoformas relacionadas a esta enzima pudiesen tener un papel importante en el desarrollo de cáncer de ovario, ya que su expresión no es homogénea en los tumores de ovario (Motohara et al., 2010), sin embargo, la actividad de esta enzima se ha visto en el citoplasma de las células estromales en mujeres postmenopáusicas y en quistes de corticales de inclusión, lo que indica que su actividad sigue presente aún con el término de los ciclos reproductivos, pero continua disminuyendo con la edad (Brodowska et al., 2014). Asimismo, se ha observado que los inhibidores de la 17 β -HSD podrían tener un efecto favorable en las pacientes con diversos tipos de cáncer, en el 2006 Husen y colaboradores determinaron su uso en xenotrasplantes de ratones desnudos, demostrando que su utilización disminuye la masa tumoral en tumores de útero y un aumento en la apoptosis al ser utilizado en cultivos de la línea MCF-7 de cáncer de mama.

Enzima sulfatasa de esteroides

La enzima sulfatasa de esteroides (STS) se encuentra localizada en el cromosoma Xp22.31 (Rižner, 2016a), está conformada por diecisiete genes bien identificados en humanos, los primeros de ellos descritos en placenta, los cuales se han visto relacionados con diversos síndromes genéticos, como ictiosis ligada al cromosoma X, alteraciones metabólicas y diversos tipos de cáncer como mama, endometrio y ovario, esto asociado principalmente a la capacidad de activar hormonas sulfatadas principalmente E₁S y DHEAS, cataliza los procesos relacionados con la hidrólisis de los enlaces ester derivados de sus sustratos, en mujeres se ha asociado principalmente a órganos dependientes de estrógenos, tales como mama, ovarios, endometrio y placenta (Ren et al., 2015), sin embargo, puede estar presente en otros órganos y tejidos, como en, próstata, piel, cerebro, pulmón, riñón y hueso (Reed et al., 2005), su localización celular se encuentra en el lumen del retículo endoplasmático, aunque también se ha reportado en las cisternas del aparato de Golgi (Mueller et al., 2015; Suzuki et al., 2011). Asimismo en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas la actividad de la STS es de 50-200 veces más con respecto a la aromatasas, de tal manera que se ha asociado a diversos tipos de cáncer como el de mama (Pasqualini et al., 1996), además de que su ARNm se encuentra más activo en células tumorales con respecto a células normales.

Su actividad varía dependiendo de la estirpe celular, tejido y estado reproductivo, en diversos estudios han determinado que su actividad incrementa en el tercer trimestre del embarazo y en la fase proliferativa mediada por progesterona durante este ciclo menstrual (Miyakawa et al., 1994; Rižner, 2016a), además, de aumentar su actividad en mujeres durante la pubertad con respecto a los varones, lo cual indica que la síntesis diferencial de hormonas esteroides sexuales intervienen en la producción de la sulfatasa de esteroides (Cuevas-Covarrubias et al., 1993). Otras regulaciones asociadas a la acción de la STS es la presencia de citocinas pro-inflamatorias como IL- α , la IL-6 y el TNF α , las cuales modifican la actividad de la enzima por diferentes mecanismos biológicos (Rižner, 2016b).

Receptores de hormonas esteroides sexuales

Las hormonas desempeñan múltiples procesos biológicos en el organismo, en la mayoría de los casos es indispensable que estas se unan a receptores específicos para llevar a cabo una función determinada, existen diversos tipos de receptores asociados a cada hormona, entre los que destacan los receptores de hormonas esteroides sexuales, los cuales, al ser activados cumplen diversos procesos asociados a eventos principalmente reproductivos (Goldstein et al., 2004; Molenda et al., 2003). Los receptores de hormonas esteroides sexuales pertenecen a la súper familia de los receptores nucleares de Clase I, actuando como factores de transcripción (Porter et al., 2019), entre estos se encuentran, el receptor de andrógenos (AR), el receptor de estrógenos (ER) y el receptor de progesterona (PR), estas proteínas presentan dos dominios de transactivación y una región bisagra, el AF-1 (A/B) localizado en el extremo N-terminal, AF-2, en el extremo C-terminal, un dominio de unión al ligando (LBD), y uno de unión al ADN, el cual presenta secuencias conservadas entre cada tipo de receptor o isoformas asociadas a estos (McKenna et al., 1999).

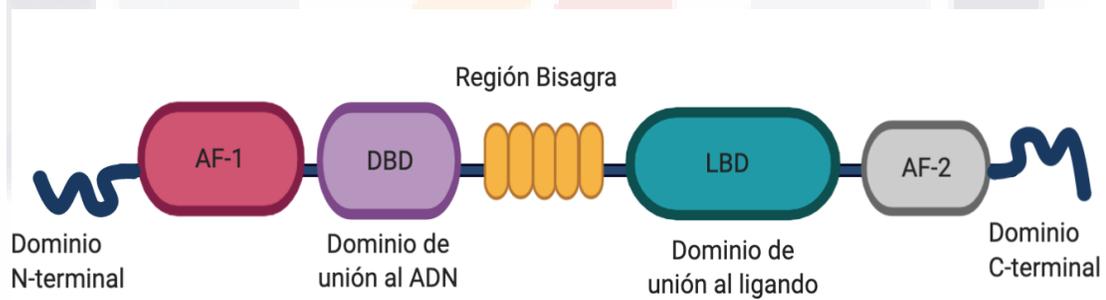


Figura 11. Estructura clásica de receptores de hormonas esteroides sexuales.

La activación de los receptores de hormonas esteroides sexuales, se lleva a cabo una vez que la hormona atraviesa la bicapa lipídica de la membrana plasmática y contacta con su receptor específico, el cual permanece unido a proteínas de choque térmico (hsp por sus siglas en inglés) hasta que son reconocidas por las secuencias complementarias de la hormona en el citoplasma de la célula, una vez que se lleva a cabo el reconocimiento entre la hormona y el receptor se disocia la hps para permitir la unión hormona-receptor, a continuación, ocurren cambios conformacionales en el receptor que promueven su mejor acoplamiento, se llevan a cabo dimerizaciones que al translocar al núcleo reconocen secuencias palíndromas que permiten la unión en los sitios DBD y se unen a los elementos

de respuesta al ADN, asimismo, se reclutan al complejo, proteínas co-activadoras o co-reguladoras de la transcripción de sus genes blanco relacionadas en un tejido específico (Georget et al., 2002; Molenda et al., 2003; Sever and Glass, 2013).

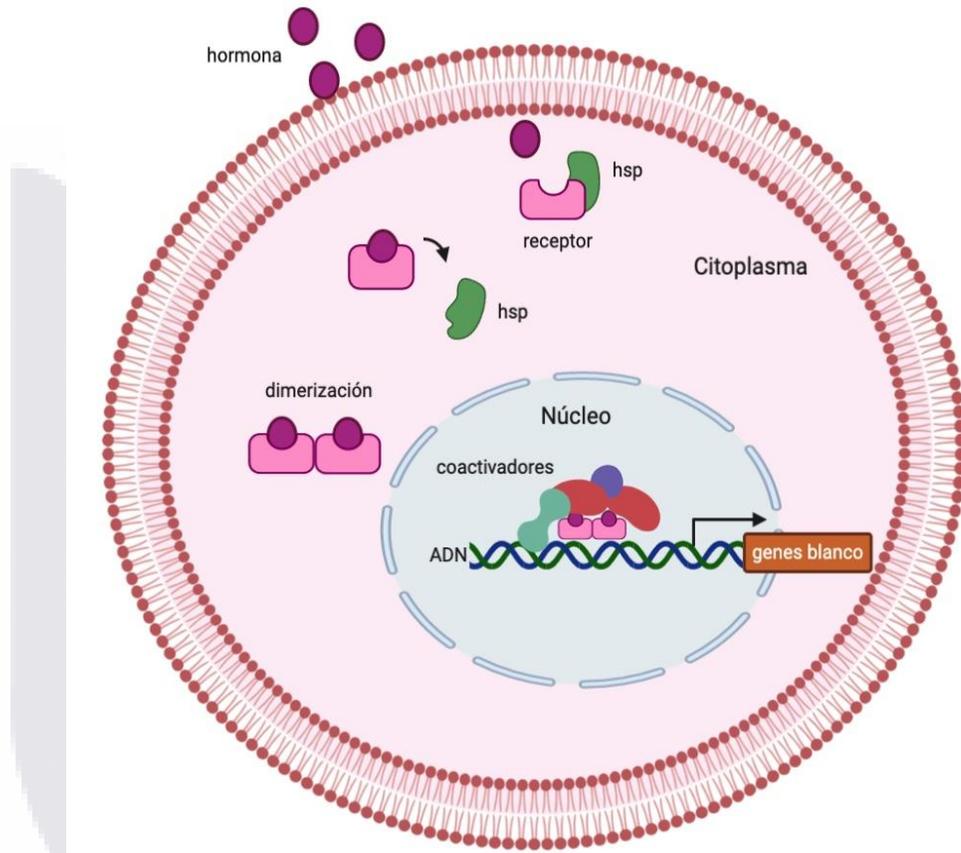


Figura 12. Vía de señalización de hormonas esteroides sexuales por la vía canónica. Las hormonas al ingresar a la célula y contactar a su receptor blanco este se disocia de las hsp para permitir la unión entre la hormona y el receptor presentando cambios conformacionales para seguido llevar a cabo la dimerización del complejo hormona-receptor, estos se translocan al núcleo de la célula y contactan con secuencias específicas en el ADN denominadas elementos de respuesta que serán específicos para cada tipo de receptor, asimismo, se asocian proteínas que promueven la transcripción de genes blanco (Georget et al., 2002; Molenda et al., 2003).

Receptor de Andr6genos

El receptor de andr6genos es una prote3na conformada por 919 amino3cidos, pertenece a la superfamilia de los receptores nucleares Clase I, tiene un peso molecular de 11kDa, se encuentra localizado en el cromosoma X (locus Xq11-Xq12) y est3 conformado por ocho exones (Tan et al., 2015). Se encuentra participando en el mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios, la espermatog3nesis en la diferenciaci3n sexual, s3ndromes relacionados a alteraciones gen3ticas, como el caso del s3ndrome de feminizaci3n testicular (Sultan et al., 1993), hasta su participaci3n en diversos tipos de c3ncer, como pr3stata y mama (Michmerhuizen et al., 2020), estos procesos est3n mediados principalmente por la testosterona y la dehidrotestosterona, la mayor3a de los procesos biol3gicos relacionados a la hormona y su receptor est3n asociados a efectos fisiol3gicos en el hombre, sin embargo, tambi3n se encuentran realizando funciones en la mujer, tales como, en el desarrollo y mantenimiento del tejido ov3rico, en trompas de Falopio y en endometrio (Gibson et al., 2014; Zhu et al., 2017). El receptor de andr6genos al igual que el de progesterona y estr6geno participa como factor de transcripci3n, asimismo, puede estar interactuando en diversas v3as de se3alizacion, como la v3a PI3K/Akt/mTOR, PTEN, la v3a de EGFR etc, (Kono et al., 2017), esto le permite al receptor poder amplificar la se3al activando diversas prote3nas mediadas por segundos mensajeros, sin embargo, estos receptores pueden estar efectuando diversos procesos en la c3lula estando anclados a la membrana plasm3tica, esto lo hacen debido a que presentan sitios de palmitoilaci3n en el dominio E del receptor, esto les permite llevar a cabo funciones que requieren una activaci3n intracelular (Levin, 2008).

Receptor de estr6genos

Existen diversos tipos de receptores de estr6genos, entre los cuales se encuentran los receptores nucleares, los receptores de membrana y los receptores acoplados a prote3nas G, cada uno de ellos tiene la capacidad de contactar a su ligando para llevar a cabo alguna acci3n biol3gica (Levin, 2008). En el caso de los receptores nucleares se ha descrito al ER α y ER β , ambos comparten m3s del 95% de homolog3a en su sitio de uni3n al ADN, su transcripci3n se lleva a cabo por diferentes genes localizados en diferentes cromosomas, lo cual les brinda la capacidad de realizar funciones diferentes, en el caso del ER α se encuentra expresado en gl3ndula mamaria, 3tero, ovario, hueso test3culo y epid3dimo, mientras que el ER β se encuentra distribuido en pr3stata, vejiga, epitelio del ovario, tejido

adiposo y colon (Farzaneh et al., 2016; Levin, 2008); asimismo, la función biológica de cada uno de ellos se encuentra restringida al balance que presenta cada receptor, en el caso del ER α se ha asociado principalmente a procesos de proliferación en la célula por lo que se ha visto asociado a diversos tipos de cáncer dependientes de estrógenos como cáncer de mama y cáncer de endometrio, mientras que el ER β se relaciona con funciones antiproliferativas, en algunos estudios lo refieren como un marcador de buen pronóstico para algunos tipos de cáncer, como en el de ovario (Heldring et al., 2007).

Receptor de ER α

Una de las características que se le atribuye al ER α a diferencia del ER β es que presenta una mayor actividad transcripcional debido a que en su extremo N-terminal tiene un excedente en su secuencia de aminoácidos, mientras que el ER β tiene una secuencia de 530 el ER α presenta una secuencia total de 595 (Porter et al., 2019). El ER α se encuentra localizado en el cromosoma 6q25.1 y es codificado por el *ESR1*, tiene un peso molecular de 66kDa, sin embargo, cuenta con otras isoformas de menor tamaño (36kDa y 46kDa) como producto de *splicings* alternativos, los cuales carecen de NTD y del dominio AF-1 (Fuentes and Silveyra, 2019), se encuentra expresado principalmente en órganos y tejidos reproductivos (mama, útero ovario), de igual manera, está distribuido en todo el cuerpo, especialmente en riñón, hígado y cerebro (Amenyogbe et al., 2020). Este tipo de receptor actúa como factor de transcripción nuclear, por lo que presente una señalización de tipo canónica induciendo la transcripción de genes blancos, participa en procesos de diferenciación celular, proliferación y apoptosis, debido a éstas características, han relacionado al ER α directamente con el desarrollo de cáncer de mama y cáncer de endometrio (Lupu and Menendez, 2006).

Receptor de ER β

Se encuentra codificado por el *ESR2* localizado en el cromosoma 14q22-24, presenta un peso molecular de 60kDa presenta cinco isoformas de menor tamaño, con modificaciones en el extremo carboxilo terminal y LBD, se encuentra distribuido en ovarios, pulmones, tracto gastrointestinal, vejiga y sistema nervioso (Amenyogbe et al., 2020; Fuentes and Silveyra, 2019). A pesar de que el ER β y el ER α se encuentran codificados por genes distintos, ambos presentan sitios de unión al ligando altamente conservados, asimismo, tienen la capacidad de formar heterodímeros, lo que les confiere una mayor actividad biológica además de que el ER β participa en la supresión de la actividad mitogénica del ER α (Porter et al., 2019); tanto el receptor alfa como el beta, pueden interactuar con otras moléculas que amplifican la señalización río abajo, tales como proteínas G, receptores con actividad de tirosin-cinasa, así como receptores asociados a factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y el factor de crecimiento semejante a la insulina tipo1 (IGF-1), asimismo, pueden interactuar con proteínas de señalización como Src, PI3K, ErbB2 y con proteínas adaptadoras como Shc, SH2, lo cual facilita la interacción con otras moléculas que participan en procesos relacionados con proliferación, diferenciación y apoptosis, como las vías de las MAPK y Akt, vías que se han visto alteradas en algunos tipos de cáncer como en mama, ovario, útero y endometrio, los cuales se han relacionado con la expresión tanto del ER β como el ER α (Fuentes and Silveyra, 2019).

GPER1

A diferencia de los receptores nucleares, el GPER1 o como anteriormente se le conocía como GPER30, se encuentra localizado en el cromosoma 7p22.3, es un receptor de siete dominios transmembranales acoplado a proteínas G, tiene un peso molecular de 44kDa, se encuentra distribuido en diversos tejidos como útero, hueso, sistema nervioso, etc., una vez que su ligando se une al receptor se llevan a cabo señalizaciones de acción rápida mediadas por la activación del adenilato ciclasa, los cuales incrementan las concentraciones de AMP cíclico, promoviendo movilizaciones de calcio permitiendo la síntesis y activación del fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato, y con ello, la acción de segundos mensajeros para una activación intracelular (Chen et al., 2019; Fuentes and Silveyra, 2019); asimismo, el GPER1 puede estar mediando la vía genómica y promover la

transcripción de genes específicos, esto debido a que durante la señalización puede estar interactuando con los receptores de estrógenos nucleares (Vajaria and Vasudevan, 2018). El GPER1, puede participar en procesos de proliferación celular mediados por 17-β estradiol en tejidos que no expresan alguno de los receptores nucleares clásicos, por lo que se ha visto asociado a diversos tipos de cáncer como en mama, tiroides y ovario, y su expresión se ha asociado con mayor agresividad en líneas celulares (Nilsson et al., 2011; Vajaria and Vasudevan, 2018) por lo que recientemente el GPER1 ha sido propuesto como blanco terapéutico para enfermedades metabólicas, cardiovasculares, del sistema nervioso, y algunos tipos de cáncer (Nilsson et al., 2011).

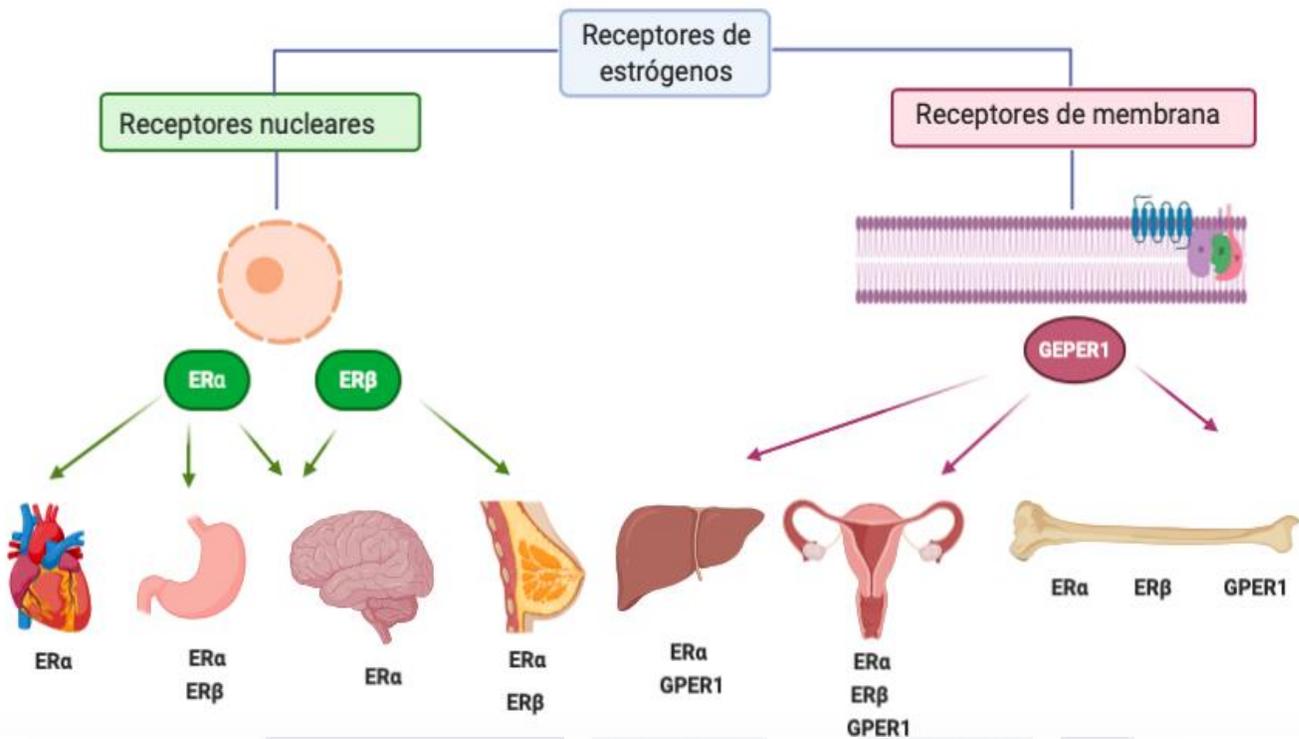


Figura 13. Principal distribución de los receptores nucleares, ERα y ERβ y del receptor transmembranal GPER1 en el organismo.

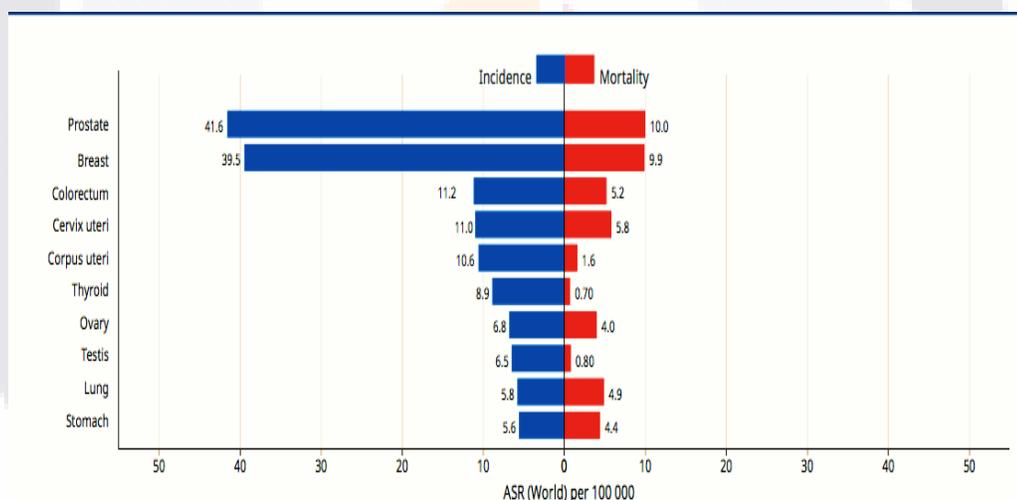
Receptor de progesterona

Pertenece a la superfamilia de los receptores nucleares de Clase I, se encuentra localizado en el cromosoma 11q22-q23, cuenta con dos sitios de transcripción codificados por dos promotores distintos, los cuales dan como resultado dos isoformas del receptor, la primera de estas de mayor tamaño es la PR-B de 116 kDa, PR-A de 94 kDa, PR-C 60 kDa, en las primeras dos isoformas, las secuencias del dominio de unión al ADN, la región bisagra, y el dominio de unión al ligando son las mismas, la diferencia entre ambos radica en el extremo amino terminal, además de la diferencia de 164 aminoácidos en el PR-A, mientras que para PR-C carece del dominio de unión al ADN, por lo que transcripcionalmente es inactivo (Bottino and Lanari, 2010; Hagan et al., 2012; Patel et al., 2015). No obstante, pese a que el PR-B y PR-A, presentan una alta homología en la secuencia de aminoácidos, cada uno de ellos presenta una función órgano-específica, de tal manera, que el PR-B es necesario para el desarrollo de glándula mamaria, mientras que el PR-A, es necesario para el desarrollo uterino (Hagan et al., 2012). La función del PR puede ser a partir de dos vías principales, la genómica y la no genómica, en la primera, el PR actúa como factor de transcripción regulando la transcripción de genes blanco, y la vía no genómica, en esta vía de señalización el PR se encuentra anclado a la membrana plasmática y está acoplado a proteínas G, que una vez activa esta vía desencadenando una serie de activaciones o inhibiciones que permiten que se lleve a cabo de manera más rápida una determinada función (Patel et al., 2015), sin embargo, la activación de ciertas proteínas en el citoplasma, tales como Src, ERK/MAPK asociadas con señalizaciones extranucleares, están asociadas a patologías como cáncer de mama, pulmón, útero y ovario (Hagan et al., 2012).

Antecedentes

En México, en el 2003 el cáncer de ovario era considerado como la cuarta causa de muerte por cáncer ginecológico en la mujer, registrando más de 4,000 casos, sin embargo, en el 2016 estudios realizados por el INEGI, reflejaron que en la actualidad este tipo de cáncer ya es considerado como la segunda causa de muerte en los tumores ginecológicos, además de que se ha observado un aumento en la incidencia de más de 5,000 casos anuales (Bray et al., 2018). Estudios epidemiológicos comprendidos entre los años de 1980 al 2011 indican que la cantidad de fallecimientos reportados en mujeres de entre 35 y 64 años se ha elevado en un 1.4% (Torres-Sánchez et al., 2014), no obstante, pese a que este tipo de tumores se asocian en su mayoría en mujeres en edades menopaúsicas se ha observado un incremento en el desarrollo de este tipo de cáncer en mujeres de 18-29 años.

<http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018nal.pdf>



El tumor maligno más frecuente de ovario es el tipo epitelial, se detecta en estadios avanzados de la enfermedad, ya que no presenta síntomas específicos y no existen marcadores eficaces para su detección oportuna, y aunque cerca de 80% de los casos responde al tratamiento primario, entre el 60-70% de las mujeres presenta recaídas a la enfermedad que se vuelven resistentes a los tratamientos quimioterapéuticos, aunado a la falta de preparación médica que presentan los doctores para la realización de las cirugías al momento de la citoreducción (De León, 2011; Gallardo-Rincón et al., 2016).

Síntesis de hormonas esteroideas en cáncer epitelial de ovario

Durante la vida de la mujer la síntesis y secreción de hormonas esteroideas presenta múltiples cambios especialmente durante los ciclos reproductivos, su producción se lleva a cabo principalmente en glándulas como ovario y glándulas suprarrenales, sin embargo, una vez que se llega a la etapa menopáusica la biosíntesis de progesterona y estradiol disminuyen hasta un 90% (Mungenast and Thalhammer, 2014), de tal manera, que su producción se lleva a cabo en tejidos periféricos, tales como cerebro, piel, hígado y hueso principalmente (Labrie, 2015), no obstante, estudios han reportado que el metabolismo de las hormonas esteroideas puede llevarse a cabo inclusive en ciertos tipos de patologías; diversos grupos de investigación han sugerido que la síntesis de hormonas puede llevarse a cabo de manera intratumoral en diversos tipos de neoplasias, como en cáncer de mama, endometrio y ovario (Bulun et al., 2007; Nakata et al., 2003), de tal manera, que en procesos tumorales existe una sobreproducción de hormonas para llevar a cabo funciones asociadas a proliferación, diferenciación, angiogénesis, etc. (Fig 14).

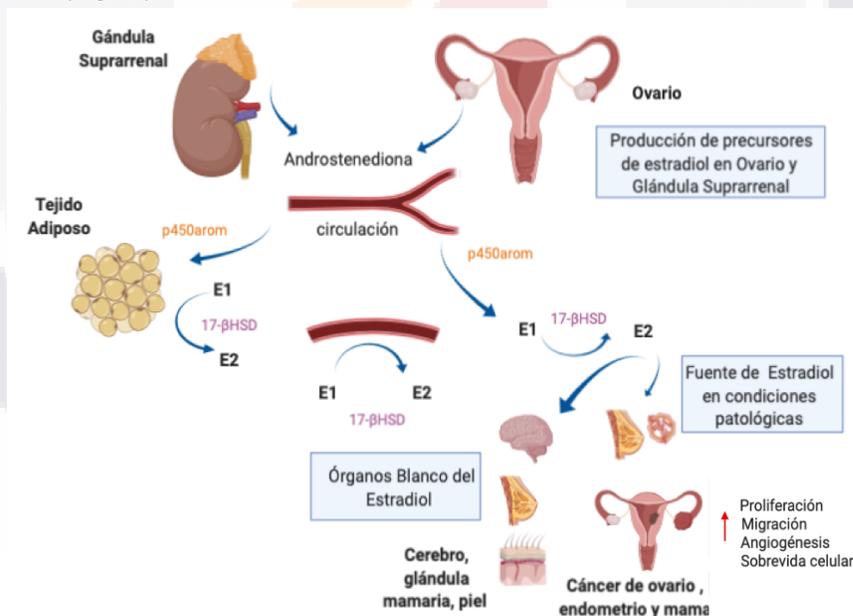


Figura 14. Síntesis de estradiol a partir de precursores inactivos. La producción de estradiol puede estar mediado por diversos procesos, los cuales involucran la síntesis de androstenediona en glándula suprarrenal y en ovario, la cual al llegar a circulación puede pasar a E₁ y E₂ por acción de la 17β-HSD o pasar a tejido adiposo en donde la androstenediona por acción de la P450 aromatasa es convertida a E₁ y de forma subsecuente es convertida a E₂, sin embargo, en algunos tipos de cáncer principalmente aquellos hormono-dependientes reflejan niveles elevados de estradiol y de sus precursores, Modif. de Bulun et al., 2007.

Por otra parte, las hormonas sulfatadas también pueden llegar a tener un papel importante en el desarrollo de cáncer de ovario, debido a que en mujeres postmenopáusicas reflejan altos niveles de E1-S (estrone sulfato), 5-Diol-S (androstenediol sulfato) y DHEA-S (dehidroepiandrosterona sulfato), y son precisamente estas hormonas inactivas las que se han visto asociadas con procesos carcinogénicos en ciertos tipos de cáncer, debido a que son capaces de ingresar a las células tumorales a través de acarreadores como los SLC y los OATPs (Fig. 15) (Mungenast and Thalhammer, 2014) los cuales transportan a estas hormonas provenientes de tejidos periféricos (principalmente hígado y glándula suprarrenal), y una vez ingresando a las células son capaces de activarse por medio de la desulfatación con ayuda de la STS, de tal manera, que se promueve la conversión a estradiol el cual al ser el estrógeno biológicamente más activo es capaz de mediar diversos procesos biológicos en sus receptores (GPER1, ER β , ER α , ERR α) (Suzuki et al., 2011).

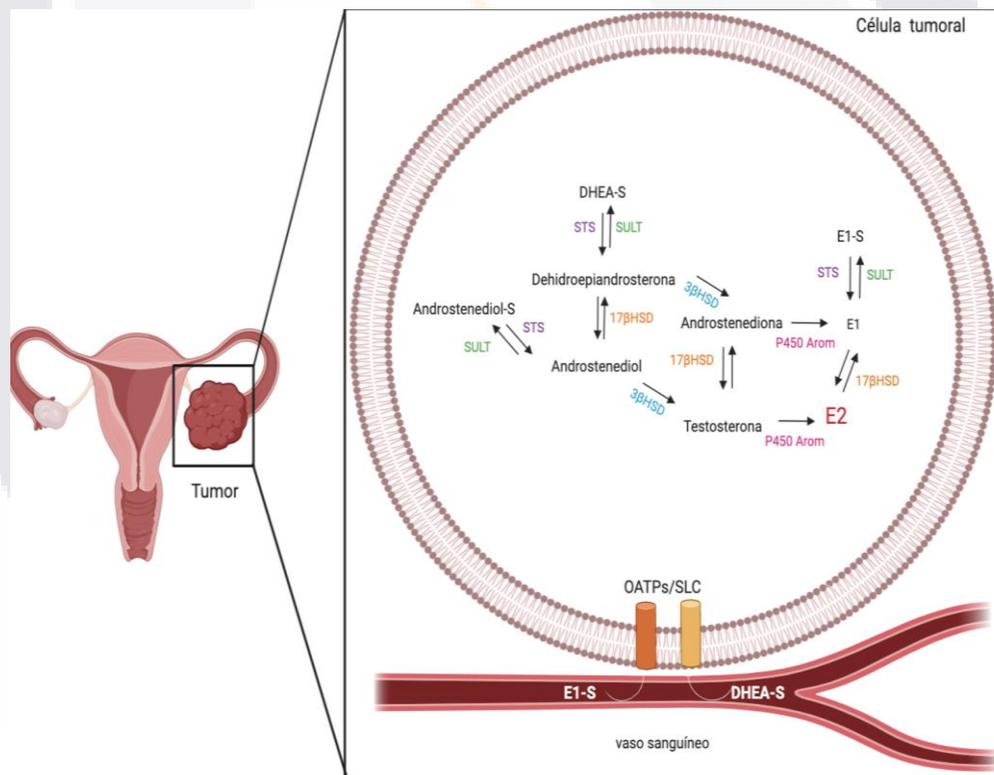


Figura 15. Síntesis de estradiol en células tumorales de cáncer de ovario. La llegada de hormonas sulfatadas como DHEA-S, E1-S y 5-Diol son transportados desde la circulación hasta el interior de las células tumorales, las cuales presentan a las enzimas necesarias para su activación como la STS y la conversión a E₂ por la P450arom y la 17 β -HSD. Modif. de (Mungenast and Thalhammer, 2014)

Enzimas esteroideogénicas en cáncer epitelial de ovario

P450 aromatasa en CEO

Actualmente la enzima P450arom (aromatasa) ha tenido diversas implicaciones en la toma de decisiones para el tratamiento de pacientes con cáncer, especialmente en aquellos que se tiene una relación directa con la participación de los estrógenos, no obstante, aún no se conoce el cómo ésta enzima se relaciona con la promoción del cáncer de ovario. Por otra parte, estudios por Bowman et al., en el 2002 utilizando letrozole (inhibidor de la enzima) observaron una estabilización de la enfermedad en el 12% de las pacientes que participaron en el estudio, asimismo, observaron una reducción de los niveles de CA125 y un aumento en la expresión de EGFR, receptor que es mediado por en algunos procesos por estrógenos, de igual manera, estudios realizados con este inhibidor asociados a la utilización de tamoxifen en pacientes con cáncer de ovario reflejaron una mayor sobrevida a la enfermedad, además de disminuir los niveles de CA125 (Papadimitriou et al., 2004), desafortunadamente, la aplicación de estos fármacos son utilizados como último recurso para el tratamiento de estas pacientes.

Por otro lado, Brodowska, 2014 utilizando una población de 104 mujeres posmenopáusicas, determinaron la presencia de esta enzima inclusive diez años después de la menopausia, lo cual implicaría que la aromatasa podría seguir activa y por ende participar en procesos metabólicos relacionados con el estradiol, lo cual concuerda con estudios realizados por Ren et al., (2015), en donde observaron el ARNm de diversas enzimas entre ellas la 17β -HSD5 en mujeres menopáusicas, lo cual implicaría que el potencial enzimático permanece aún después del cese en la foliculogénesis.

17 β -HSD en CEO

La enzima 17 β -HSD ha sido considerada como marcador de mal pronóstico en pacientes con cáncer epitelial de ovario, debido a que en líneas celulares aisladas de carcinomas de ovario A2780 observaron que la utilización de un siRNA específico para la 17 β -HSD12 (isoenzima encargada de catalizar la reacción de E₁ a E₂) tuvo un efecto directo sobre procesos de proliferación y apoptosis, obteniendo un menor número de células después del silenciamiento, además de reflejar mayor porcentaje de muerte celular *in vitro* (Szajnik et al., 2012).

Asimismo, estudios realizados sobre pacientes mostraron a la 17 β -HSD como probable factor de riesgo reflejando su actividad en el 97% de los casos (Chura et al., 2009), esto se correlaciona con lo obtenido por Brodowska 2014, donde muestra que la expresión de la enzima se observa después de la menopausia. Por otro lado, otros estudios han descrito la expresión tanto de la 17 β -HSD2 como de la 17 β -HSD5 en ESO como en CEO, sin embargo, la presencia de la 17 β -HSD5 es mayor que la 17 β -HSD2, lo cual estaría indicando la participación de estrógenos libres dentro del tumor (Mungenast and Thalhammer, 2014; Ren et al., 2015).

STS en CEO

Al igual que la P450arom y la 17 β -HSD han sido consideradas como factores de mal pronóstico para diversos tipos de cáncer entre ellos el de ovario, la STS es una de las más importantes debido a su acción biológica intratumoral, tal como menciona Nakata et al., en el 2003 la formación de estrógenos está directamente relacionada con la STS en tumores de mama en ratón, sin embargo, estudios por (Mungenast et al., 2017) reportan la participación de esta enzima en la carcinogénesis del ovario y su se ha visto influenciada por la acción de citocinas proinflamatorias como el caso de la IL-1 α , a cual aumenta la acción de los niveles del ARNm de la STS en cultivos celulares de cáncer de ovario de la línea SKOV3, sin embargo, este efecto no fue observado en cultivos celulares de epitelio superficial normal (Ren et al., 2015), otros trabajos han asociado que la IL1 β suprime la expresión de la sulfatasa de esteroides en células estromales, mientras que otras citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la IL-6, participan en el aumento de la actividad de la STS en líneas celulares MCF-7 de

cáncer de mama, sin embargo, ambas citocinas han sido relacionadas con la promoción de la carcinogénesis en ovario (Kolomeyevskaya et al., 2015; Matsuoka et al., 2002).

Por otra parte, la expresión se ha relacionado a peor pronóstico para pacientes con CEO, un estudio que incluyó 37 pacientes se observó que el 97% fueron positivas a la enzima, demostrando que la actividad elevada de la STS está correlacionada con una menor supervivencia total y menor periodo libre de enfermedad (Chura et al., 2009), sin embargo, otro estudio por Okuda et al., en 2001 realizado en tumores del subtipo de células claras de cáncer de ovario no demostró cambios en la supervivencia total de las pacientes con la expresión de la STS. No obstante, pese a que se desconocen del todo los mecanismos en los que interviene esta enzima en CEO el uso de inhibidores de la STS ha dado buenos resultados en diversos tipos de cáncer, la utilización de fármacos asociados a la inactivación de la enzima ha dado resultados favorables, Foster et al., 2008, lograron una reducción del tamaño tumoral utilizando modelos animales con cáncer de endometrio del 48% y 67% utilizando a los inhibidores STX64 y STX213 respectivamente, asimismo la utilización del STX64 ha demostrado tener un efecto favorable al disminuir significativamente la actividad de la STS en cultivos celulares de la línea OVCAR-3 de cáncer de ovario (Day et al., 2009; Foster et al., 2008; Ren et al., 2015).

Receptores de hormonas esteroides sexuales en cáncer epitelial de ovario

Receptor de andrógenos en CEO

Existen diversos estudios que asocian el papel de los andrógenos con el desarrollo de cáncer de ovario, esto se debe principalmente, al papel que desempeñan en la proliferación celular del epitelio superficial del ovario, asimismo, las concentraciones elevadas de andrógenos séricas aumentan la probabilidad de desarrollar el síndrome de ovario poliquístico, quistes ováricos, alteraciones hormonales, entre otros, los cuales, se han correlacionado con un incremento en la probabilidad de desarrollar cáncer de ovario (Hart et al., 2004), además de que la realización de procedimientos como histerectomías o la ligadura en las tubas han reflejado una disminución significativa de los niveles circulantes de andrógenos lo cual se ha descrito como factor de protección para el desarrollo de CEO (Zhu et al., 2017). Asimismo, los efectos biológicos de esta hormona están mediados por la unión a su receptor, el cual se ha visto implicado en diversos tipos de cáncer como riñón, pulmón, mama, próstata y ovario (Modugno et al., 2012; Olsen et al., 2008) la relevancia que presenta el receptor de andrógenos (AR) en distintas patologías reside en el funcionamiento que tiene la proteína en diversos procesos biológicos, los cuales incluyen proliferación celular, crecimiento, regulación de diversos tipos de citocinas, factores de crecimiento y cinasas (Mulder et al., 1989; Shao, 2011; Wang et al., 2007), de tal manera, que alteraciones en la proteína pueden promover la transformación celular hasta el desarrollo de cáncer de ovario, por lo que, la participación del AR, se asocia principalmente con proliferación celular y la inhibición de la apoptosis (Gibson et al., 2014; Modugno et al., 2012), otros estudios *in vitro*, han demostrado que la estimulación con testosterona y dehidrotestosterona promueven la fase S del ciclo celular en los cultivos celulares de la línea OV-90, asimismo, induce el crecimiento tumoral al potencializar los efectos proinflamatorios de las citocinas IL-6 e IL-8 mediada por la activación del promotor del AR, otros estudios por (Kohan-Ivani et al., 2016; Shao, 2011) han demostrado que este receptor inhibe a p21 y p27 las cuales presentan una papel importante en la inhibición y regulación del ciclo celular, promoviendo de esta manera la supervivencia de las células tumorales, de igual manera, se ha asociado con la citocina TGF- β , la cual en condiciones fisiológicas participa en la inhibición de la proliferación celular en el ESO, sin embargo, el AR, actúa bloqueando

la acción del TGF- β induciendo procesos mitogénicos en las células (Kohan-Ivani et al., 2016; Song et al., 2008).

Por otro lado, el AR es detectable en más del 70% de los tumores de ovario, de los cuales la mayoría corresponden al subtipo seroso de alto grado (Gómora et al., 2018; Nodin et al., 2010), y se le ha relacionado como un posible marcador de riesgo para las pacientes, por otro lado, diversos grupos de trabajo no han reflejado una correlación directa con la presencia del AR y el riesgo de muerte en las pacientes.

Receptor de estrógenos en CEO

El receptor de estrógenos se ha visto asociado principalmente a cáncer de mama y cáncer de endometrio debido a sus efectos proliferativos en ambos tejidos (Lupu and Menendez, 2006) en cáncer de ovario su participación sigue siendo controversial, algunos estudios han sugerido la forma de acción del receptor, en el caso del receptor de estrógenos beta (ER β), su función en cáncer de ovario ha sido relacionada con mejor sobrevida para las pacientes, además de participar en la disminución de la proliferación celular, migración y activación de muerte celular por apoptosis (Cheng et al., 2004; Schüler-Toprak et al., 2018; Treeck et al., 2007), su expresión en carcinomas de ovario es de más del 47%, reflejando una mayor sobrevida total de las pacientes con respecto a aquellas que no lo expresaban (Schüler-Toprak et al., 2018). Por otra parte, el ER α se expresa en más del 65% de los tumores de ovario y su función en este tipo de cáncer ha sido asociada a procesos en proliferación celular, migración, invasión y metástasis, debido a que participa en vías de señalización que involucran activaciones no genómicas como la vía de ERK1/2, MAPK, c-Src, FAK etc, así como eventos canónicos asociados en la transcripción de genes involucrados en estos procesos, (Ataei et al., 2019; Chan et al., 2017; Spillman et al., 2010), no obstante, pese a que su función se atribuye a eventos que promueven la carcinogénesis del tejido ovárico, estudios por Chan y colaboradores en 2017, determinaron una mejor sobrevida total de las pacientes con la presencia del ER α , sin embargo, resultados obtenidos por Feng en el 2017 en pacientes con tumores primarios y recurrentes a cáncer epitelial de ovario del subtipo seroso de alto grado, demostraron un aumento significativo en el subgrupo conformado por los receptores PR- AR- ER+ de los casos recurrentes con respecto a los casos primarios, además de que este grupo reflejaba un mayor riesgo de muerte.

Receptor de progesterona en CEO

Diversos estudios han demostrado la participación del receptor de progesterona (PR) en algunos tipos de cáncer, los cuales han sido relacionados con eventos posteriores a la llegada de la menopausia (Wang et al., 2020), en el caso del cáncer de mama, aquellas mujeres que han tomado terapia de reemplazo hormonal a base de estrógenos y principalmente progesterona han reflejado desarrollar un tumor con mayor agresividad y tamaño, asimismo, cerca del 70% de las pacientes diagnosticadas con este tipo de cáncer expresan tanto el ER como el PR, los cuales han sido asociados a peor pronóstico (Badowska-Kozakiewicz et al., 2015), sin embargo, para el caso del cáncer de ovario, el uso de anticonceptivos principalmente a base de progesterona han reflejado un menor riesgo de desarrollar cáncer de ovario hasta en un 50% por 5 años posteriores a su consumo con respecto a aquellas mujeres que no los tomaron (Diep et al., 2015), asimismo, la presencia del receptor de progesterona se relaciona a eventos asociados con la muerte celular en cultivos de células HOSE (epitelio superficial de ovario humano) y OVCA (carcinomas de ovario), de tal manera que la adición de progesterona en los cultivos promueve la activación de caspasa 8, por la vía de Fas/Fas-L (Syed and Ho, 2003), otros estudios reportados por (Pedernera et al., 2019), demostraron una disminución significativa en la sobrevivencia celular en cultivos primarios de carcinomas del subtipo endometriode de cáncer de ovario al ser tratados con progesterona, además de observar una reducción de hasta un 43% en el número de células en el mismo subtipo histológico. De igual manera, se ha observado una asociación entre la expresión del receptor de progesterona y un mejor pronóstico para las pacientes, trabajos por Lee et al., en el 2005, determinaron que las pacientes que presentaban al PR reflejaban una sobrevivencia mayor con respecto a aquellas que no lo expresaban, por otro lado, Jönsson et al., en el 2015, determinaron que la presencia tanto del PR como AR, son considerados como marcadores de buen pronóstico para las pacientes, a pesar de que el PR puede estar implicado en el desarrollo de distintos tipos de cáncer como en mama y endometrio principalmente, su expresión y el uso de anticonceptivos a base de progesterona han demostrado tener un papel importante como factores de protección y mejor pronóstico para las pacientes con cáncer epitelial de ovario.

Planteamiento del problema

El cáncer epitelial de ovario se detecta en etapas avanzadas de la enfermedad, la mayoría de las pacientes presentan metástasis al momento de su diagnóstico y el 80% presentan recurrencia sobreviviendo únicamente el 35% de las pacientes a los cinco años posteriores. Esto lo convierte en el cáncer ginecológico más letal a nivel mundial y la segunda causa de muerte por cáncer ginecológico en nuestro país. A pesar de las evidencias epidemiológicas que asocian a las hormonas esteroides sexuales con el cáncer epitelial de ovario, aún no se ha determinado el papel que tienen en el desarrollo y la evolución de esta neoplasia. Por lo que este trabajo aporta evidencias del metabolismo de los esteroides sulfatados en la producción intracelular de esteroides activos en los diferentes subtipos de cáncer epitelial de ovario y su asociación con la sobrevida de las pacientes con CEO.

Justificación

El cáncer epitelial de ovario es la neoplasia ginecológica más letal a nivel mundial, en México representa la segunda causa de muerte, sin que hasta la fecha se cuente con la información suficiente para revertir esta situación ya que no existen marcadores de diagnóstico oportunos ni tratamientos eficaces para combatirlo. Es una enfermedad compleja con diferentes presentaciones histológicas, mutaciones génicas y respuesta al tratamiento clínico y a pesar de que se asocia a factores reproductivos en los que están involucrados los esteroides sexuales aún no ha sido posible determinar en qué casos podría ser una patología hormono-dependiente y de ser así cómo las células malignas obtienen estas hormonas para su proliferación y sobrevivencia. Este trabajo sustenta el impacto de la sulfatasa de esteroides, la 17β -HSD1 y la P450arom sobre el metabolismo de esteroides sexuales de manera intratumoral y su asociación con los receptores de hormonas esteroides sexuales en la sobrevida de las pacientes mexicanas diagnosticadas con cáncer epitelial de ovario.

Pregunta de investigación

¿Qué papel tienen las enzimas P450arom, 17 β -HSD1 y STS y los receptores de hormonas esteroides sexuales AR, ER α y PR en los diferentes subtipos de cáncer epitelial de ovario y el grado de malignidad tumoral?

Hipótesis

En el cáncer epitelial de ovario, la expresión de las enzimas que participan en la esteroidogénesis de hormonas sexuales y de los receptores de hormonas esteroides, se asocian con menor sobrevida para las pacientes que las expresan.

Objetivo General

Evaluar la presencia de las enzimas que intervienen en el metabolismo de los esteroides sexuales y de los receptores de hormonas esteroides sexuales en los diferentes subtipos histológicos y grados de malignidad de los tumores epiteliales de ovario.

Objetivos Específicos

- Obtener, seleccionar y preservar muestras de tumores de ovario con análisis anatómico-patológico confirmado.
- Evaluar la expresión de las enzimas STS, 17 β -HSD1 y P450arom y de los receptores, AR, PR y ER α en tumores de ovario.
- Determinar la asociación en la expresión de cada una de las enzimas y de los receptores con el grado de malignidad, estadio clínico y subtipo histológico de los tumores de ovario.
- Correlacionar la expresión de cada una de las enzimas y de los receptores con la sobrevida total de las pacientes.

Materiales y Métodos

Este es un estudio retrospectivo, longitudinal y observacional; se realizó a partir de 154 muestras obtenidas de pacientes del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología de la SEDENA y el Instituto Nacional de Cancerología (INCan), las cuales fueron sometidas a los Comités de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Comité de ética del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología e Instituto Nacional de Cancerología, registro COFEPRIS 12 CEI 0901411 Y CONBIOETICA 09-CEI-002-20160413 (ver anexos). La obtención de la muestra biológica fue por conveniencia, tomando los siguientes criterios de selección:

Criterios de Inclusión: Pacientes con cáncer epitelial de ovario primario y tumores de tipo seroso bajo grado, seroso alto grado, endometrioides, mucinosos y de células claras, así como tumores de tipo seroso limítrofe, sin tratamiento previo a quimioterapia que firmaron previos el consentimiento informado.

Criterios de Exclusión: Pacientes con tumores benignos y carcinomas epiteliales de Brenner .

Criterios de Eliminación: Muestras que presentaron un análisis anatómico-patológico distinto a cáncer epitelial de ovario de los subtipos serosos, endometrioides, mucinosos, células claras, y serosos limítrofes.

Base de datos Clínicos

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando la base de datos que contiene la información de los expedientes clínicos de los pacientes participantes en el presente estudio.

Procesamiento de la Muestra

Los fragmentos de muestras de tejido menores a 1cm obtenidas en el estudio trans-operatorio se fijaron por inmersión en paraformaldehído al 4% durante 24h, se lavaron con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) y se deshidrataron con concentraciones graduales de etanol durante 1h cada uno. A continuación, se procedió a la aclaración del tejido por medio de dos cambios de xilol y se embebió en parafina (dos cambios de 3h c/u) para finalmente incluirlo en parafina en moldes de aluminio. La calidad del tejido tumoral se verificó al microscopio en laminillas teñidas con hematoxilina y eosina antes de llevar a cabo la inmunohistoquímica. Los cortes de tejido de 3µm de grosor se recibieron en laminillas tratadas con trietilmtoxosilane, luego se desparafinaron a 57°C toda la noche, a continuación, se sumergieron en xilol durante 30 minutos. Posteriormente, se procedió a la rehidratación de los tejidos mediante baños de alcoholes en concentraciones graduales descendentes hasta llegar finalmente a agua destilada.

Desparafinación y recuperación antigénica

Se inicia este proceso con laminillas hidratadas con PBS 1x, para la recuperación de epítopes inducida por calor se utiliza el buffer de citratos pH 6 dentro de una olla de presión (Decloaking Chamber Biocare Medical™) durante 15 minutos, una vez concluido este periodo se deja enfriar y se lava tres veces con PBS 1x durante 5 minutos cada vez y se prosigue con la realización de la inmunohistoquímica.

Inmunohistoquímica

Se incubaron las laminillas en H₂O₂ al 0.9% a partir de una dilución en agua destilada durante 10 minutos a temperatura ambiente; la permeabilización celular se hizo con tritón al 1% en PBS por 25 minutos y el bloqueo inespecífico con suero de caballo al 5% durante 30 minutos. Los anticuerpos primarios utilizados fueron: aromatasa dilución 1:200 (Cat. Gtx32456 Gene Tex CA 92606 USA) sulfatasa de esteroides dilución 1:200 (Cat. Gtx105498 Gene Tex CA 92606 USA) 17β HSD1 dilución 1:200 (Cat. Gtx12312 Gene Tex CA 92606 USA) y para el caso de los receptores AR dilución 1:50 (Cat. Sc816 Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA), ERα dilución 1:100 (Cat. Sc543 Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) and PR dilución 1:250 (Cat. 8757 Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA). Los tejidos se incubaron con el anticuerpo primario correspondiente por toda la noche a temperatura ambiente.

El anticuerpo secundario utilizado fue el polímero Mach 2 conjugado de cabra-anti-conejo HRP (RHRP520 Biocare Medical CA, USA) o el Mach 2 anti-ratón HRP (MHRP520 Biocare Medical CA, USA), durante 1h a temperatura ambiente, el cromógeno utilizado para revelar fue: 3,3' tetrahidrocloruro de diaminobencidina (DAB) y la tinción de los núcleos se hizo con hematoxilina de Gill y finalmente, los tejidos se montaron con resina sintética.

Inmunofluorescencia

Para los tejidos procesados por inmunofluorescencia se utilizaron anticuerpos secundarios acoplados a fluorocromos adecuados al respectivo anticuerpo primario: Goat anti-rabbit alexa 488 (Thermo Fisher Scientific, Waltham. MA, USA) y Donkey anti-mouse alexa 647 (Thermo Fisher Scientific, Waltham. MA, USA). El tiempo de incubación fue de una hora a temperatura ambiente; posteriormente se lavaron con PBS-Tween 0.1%; los núcleos se tiñeron por 3 minutos con DAPI (Cat. D95424, 6-Diamidine-2'-phenylindole dihydrochloride Sigma), los cortes se montaron con Vectashield (Cat. H-1000 Vector Laboratories), para finalmente almacenarse a 4°C protegidas de la luz hasta su observación en el microscopio confocal (Leica TSC SP5 ©).

Evaluación de Inmunopositividad

Para la evaluación de la positividad se utilizó la escala de Inmunoreactive Score (IRS), las laminillas fueron leídas por tres observadores independientes, determinando el grado de intensidad de la tinción y el porcentaje de células positivas por campo. La escala correspondiente fue de 1 <25% de células positivas, 2 para un rango de 26-50% de células positivas, 3 para 51- 75% de células positivas y 4 del 76-100% de células positivas; para determinar el grado de positividad la escala fue 1: débil, 2: moderado y 3: intensa. El puntaje máximo que se obtiene de la multiplicación de ambos factores es 12 y se consideró positiva una reacción cuando el IRS fue ≥ 2 .

Análisis Estadístico

Se evaluó la frecuencia de expresión de las enzimas y receptores a hormonas esteroides sexuales en tumores de ovario con respecto al subtipo histológico por medio de tablas de contingencia utilizando la prueba de Chi-cuadrado y Kruskal-Wallis; la asociación en la expresión de las enzimas y de cada receptor se evaluó por el coeficiente de correlación de Spearman. Se siguieron a las pacientes durante 6 años después de su diagnóstico anatomopatológico de cáncer epitelial de ovario para obtener las curvas de sobrevida total de Kaplan Meier con respecto a la expresión de las enzimas y receptores hormonales. El modelo de riesgo proporcional de Cox uni y multivariado se utilizó para la evaluación de la sobrevida global teniendo en cuenta: edad al diagnóstico, estadio clínico, tipo de cirugía, expresión de AR, ER α PR, P450arom, 17 β -HSD1 y STS, además de la co-expresión de STS y los receptores a hormonas esteroides. La diferencia estadísticamente significativa se definió con un valor de error tipo I de 5% ($\alpha \leq 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS Statistics Software.

Resultados

En el presente estudio se analizaron 154 muestras de tumores epiteliales de ovario con diagnóstico anatómo-patológico confirmado, de las cuales 27 (18%) corresponden a tumores serosos limitótrofes, 16 (10%) tumores serosos de bajo grado, 44 (29%) serosos de alto grado, 35 (23%) endometrioides y 16 (10%) al subtipo mucinoso, células claras 6 (4%) y 10 (6%) con otra clasificación, asimismo, se recopilaron las características clínicas de las pacientes para cada subtipo histológico, dentro de las cuales se incluyó la mediana de edad, estadio clínico, grado histológico y tipo de cirugía (Figura 1 y Tabla 1).

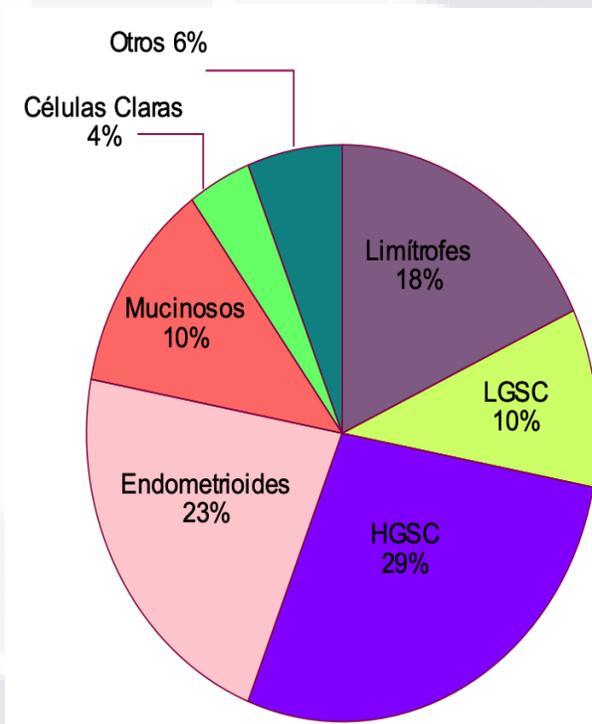


Figura 1. Distribución histológica de tumores de ovario. Se observa el porcentaje correspondiente a cada subtipo histológico en muestras de tumores de mujeres mexicanas.

Tabla 1 Características clínicas de las pacientes con CEO en cada subtipo histológico

	SBT	LGSC	HGSC	Endometrioide	Mucinoso	Células Claras	Otros	Total
Mediana edad (años)	39	52	52	49	52	52	50	49
Estadios FIGO								
I	15/27 (55)	5/15 (33)	6/42 (14)	17/31 (55)	11/12 (92)	6 /6 (100)	3/8 (38)	63/141 (45)
II	1/27 (4)	2/15 (13)	4/42 (10)	3/31 (10)	-	-	-	10/141 (7)
III	10/27 (37)	6/15 (41)	25/42 (59)	9/31 (29)	1/12 (8)	-	3/8 (38)	54/141 (38)
IV	1/27 (4)	2/15 (13)	7/42 (17)	2/31 (6)	-	-	2/8 (24)	14/141 (10)
Grado Histológico								
G1	-	-	-	8/35 (23)	-	-	-	-
G2	-	-	-	22/35 (63)	-	-	-	-
G3	-	-	-	5/35 (14)	-	-	-	-
Cirugía								
Óptima	22/24 (92)	10/10 (100)	25/36 (70)	20/27 (74)	13/14 (93)	5/5 (100)	6/8 (75)	101/124 (81)
Subóptima	2/24 (8)	-	11/36 (30)	7/27 (26)	1/14 (7)	-	2/8 (25)	23/124 (19)

SBT, serous borderline tumors; **LGSC** low grade serous carcinoma; **HGSC** high grade serous por sus siglas en inglés carcinoma. Valores absolutos (porcentaje).

La mediana de edad al diagnóstico de las 150 pacientes fue de 49 años, con un intervalo de 20 a 84 años; en el caso del estadio clínico al momento de su diagnóstico fue de ECI (45%), ECII (7%), ECIII (39%) y ECIV (10%), con variaciones dependientes del subtipo histológico del tumor, asimismo, se consideró el grado de diferenciación de las células tumorales en los carcinomas de ovario endometrioides, en donde el 23% fue catalogado en tumores bien diferenciados, 63% a moderadamente diferenciados y 14% a poco diferenciados; en cuanto al tipo de cirugía al 81% de las pacientes se les practicó una cirugía óptima y al 19% una subóptima, siendo los tumores HGSC con mayor porcentaje de cirugía subóptima (n=124).

Expresión de los receptores de hormonas esteroides sexuales y de las enzimas esteroideogénicas

La evaluación de inmunopositividad fue determinada por la intensidad del marcaje y por el porcentaje de reacción en el tejido (véase en material y métodos), la expresión de cada uno de los receptores de hormonas esteroides sexuales se observó en más del 45% de los tumores evaluados, en donde el AR se expresó en el 58%, ER α 47% y PR 58%, para el caso de las enzimas P450arom, 17 β -HSD1 y STS, 66%, 73% y 65% respectivamente, en donde la 17 β -HSD1 fue la que presentó mayor porcentaje de expresión del total de los tumores evaluados (Figs. 2–3, Tabla 2).

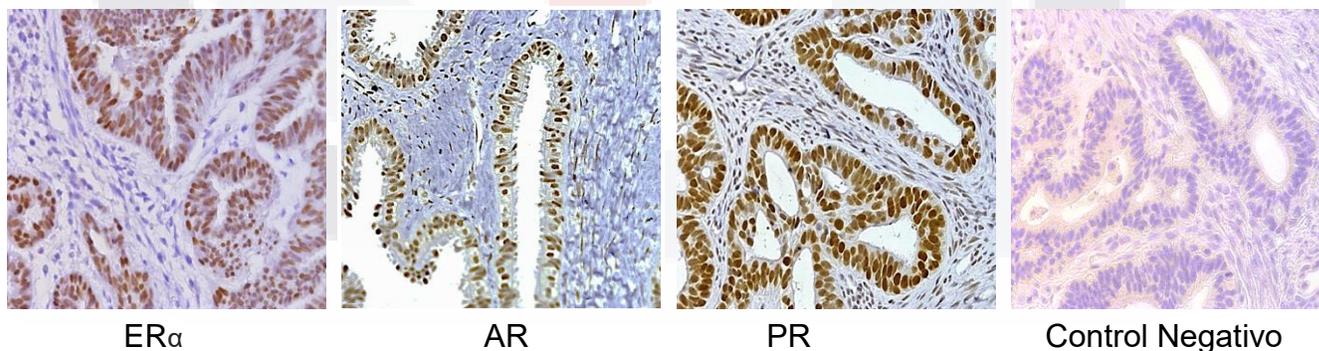


Figura 2. Inmunodetección de receptores de hormonas esteroides sexuales. El marcaje de cada uno de los receptores de hormonas esteroides sexuales se observó localizado en su mayoría en el núcleo de las células del epitelio de los carcinomas de ovario, en la última columna se observa el control negativo (desprovisto del anticuerpo primario). Fotomicrografías tomadas a 40x.

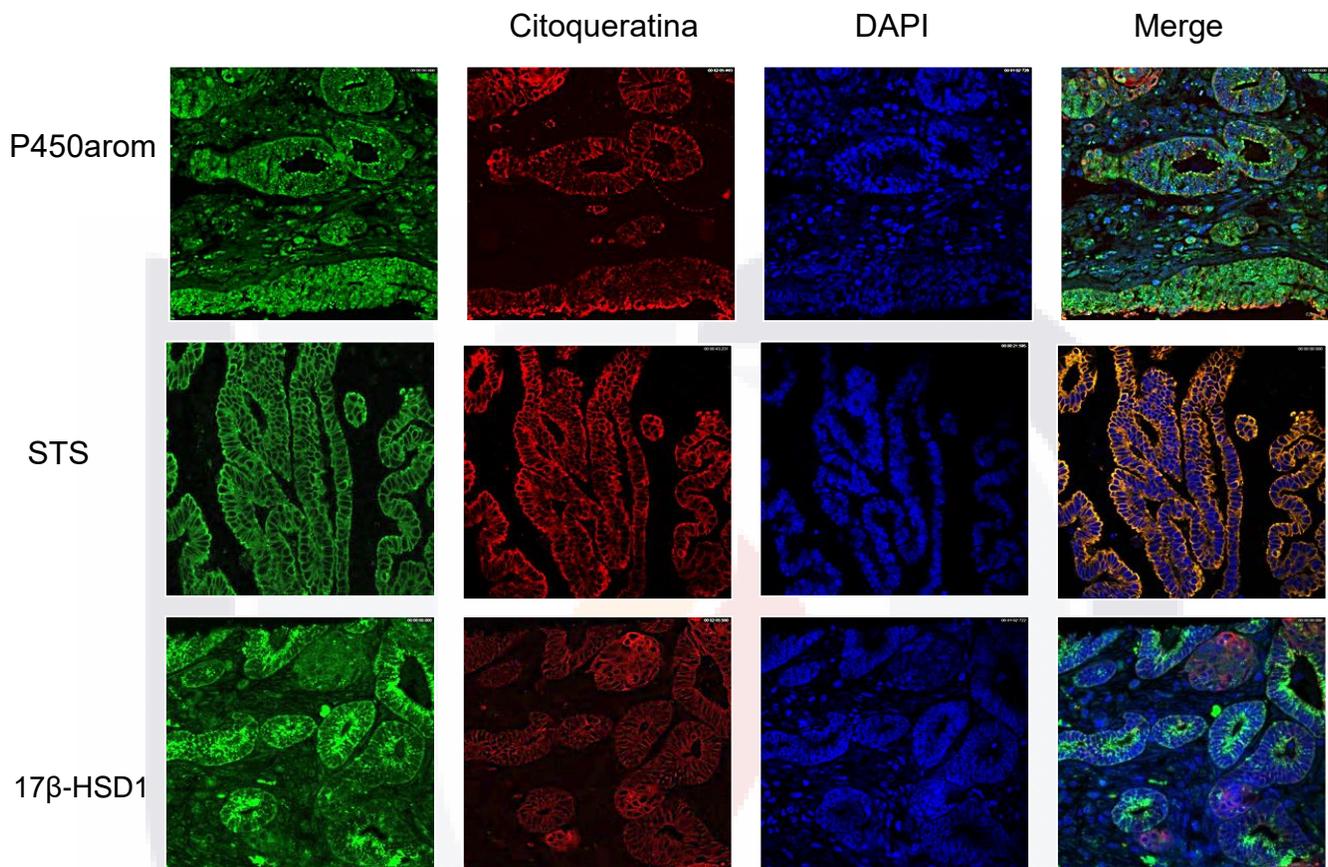


Figura 3. Expresión de las enzimas P450arom, STS y 17β-HSD1 en carcinomas de ovario. La expresión de cada una de las enzimas se observa en la primera columna de la imagen (verde), la marca se localiza en el citoplasma de las células epiteliales para **A** P450arom, **B** STS y **C** 17β-HSD, se observa DAPI (azul) como marcador de núcleos, (rojo) citoqueratina como marcador de células epiteliales, al extremo de las columnas se observa la combinación de los fluorocromos empleados. Fotomicrografías obtenidas a 63x.

Tabla 2 Frecuencia de las enzimas esteroidogénicas y de los receptores de hormonas esteroides sexuales en tumores epiteliales de ovario

	P450arom	17β-HSD1	STS	AR	ERα	PR
Frecuencia de expresión	101/153 (66)	111/153 (73)	99/153 (65)	89/154 (58)	73/154 (47)	90/154 (58)

Valores absolutos (porcentaje)

P450arom = aromatasa, **17β-HSD1** = 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo1, **STS** = sulfatasa de esteroides **AR** = receptor de andrógenos, **ERα** = receptor de estrógenos alfa, **PR** = receptor de progesterona.

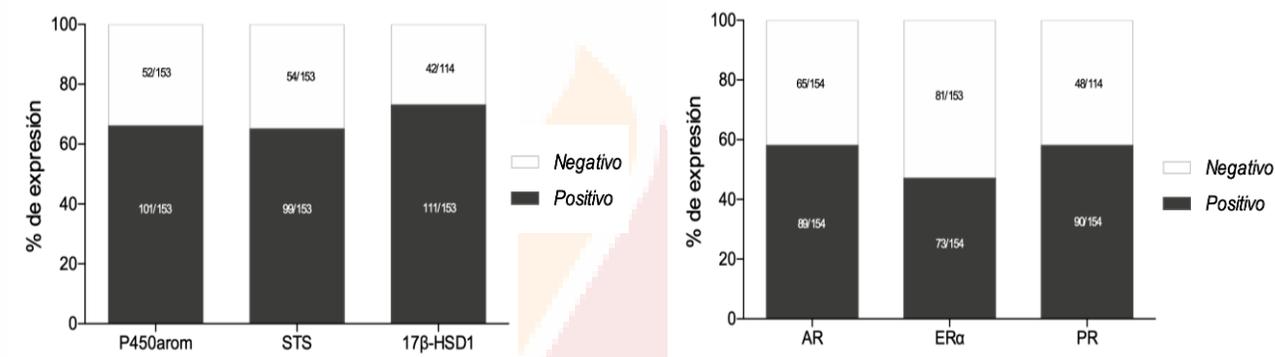


Figura 4. Frecuencia de expresión de enzimas y receptores de hormonas esteroides en cada subtipo histológico. La fracción sombreada de cada barra muestra una reacción positiva.

Frecuencia de expresión por subtipo histológico del tumor

Se realizó una estratificación de los tumores de ovario y se evaluó por subtipo histológico el perfil de expresión para cada enzima y de cada receptor de hormonas esteroides.

En el caso de las enzimas P450arom, STS y 17β-HSD1, no se observó ningún cambio al comparar entre los subtipos histológicos. Para los receptores de hormonas esteroides sexuales se observaron diferencias en PR $p = 0.038$, mientras que los receptores de AR y ERα no presentaron cambios. Al analizar los cambios en la frecuencia de expresión dentro de cada subtipo histológico se observa que los tumores serosos limítrofes no presentan cambios y en los tumores serosos de bajo grado se observa una diferencia cercana al significado estadístico de $p = 0.059$; mientras que, los tumores serosos de alto grado muestran diferencias con un valor de $p = 0.050$. En el subtipo endometriode no se observaron cambios. Los tumores donde se obtuvieron las mayores diferencias fueron en los del

subtipo mucinoso ($p = 0.006$). En ambos análisis, el cambio significativo es la reducción de la expresión del receptor a progesterona en los tumores de estirpe mucinoso (Tabla 3 y Fig. 4).

Tabla 3 Frecuencia de enzimas esteroidogénicas y receptores de hormonas esteroides sexuales por subtipo histológico

Enzima o Receptor	Limítrofe	LGSC	HGSC	Endometrioide	Mucinoso	p	Total
P450arom	20/26 (77)	8/16 (50)	29/44 (66)	20/35 (57)	12/16 (75)	0.304	137
STS	17/26 (65)	7/16 (43)	31/44 (70)	21/35 (60)	13/16 (81)	0.203	137
17 β -HSD1	22/26 (85)	13/16 (81)	30/44 (68)	24/35 (69)	9/16 (44)	0.275	137
AR	19/27 (70)	11/16 (69)	26/44 (59)	17/35 (49)	8/16 (50)	0.388	138
ER α	16/27 (59)	7/16 (44)	18/44 (41)	20/35 (57)	4/16 (25)	0.144	138
PR	19/27 (70)	13/16 (81)	24/44 (55)	21/35 (60)	5/16 (31)	0.038	138
p	0.419	0.059	0.050	0.702	0.006		

Valores absolutos (porcentaje). Valor de p obtenido por análisis de Kruskal-Wallis

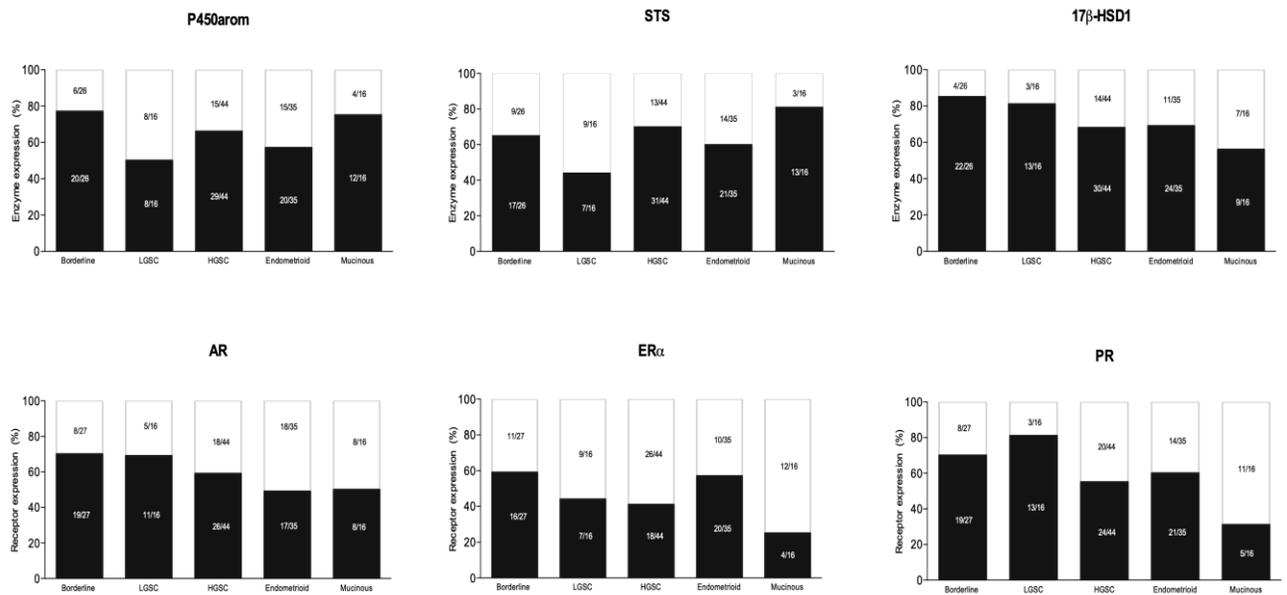


Figura 5. Frecuencia de expresión de enzimas esteroideogénicas y de los receptores de hormonas esteroideas en cada subtipo histológico. La fracción sombreada de cada barra muestra una reacción positiva, mientras que en la parte superior se observa la reacción negativa a la IHQ.

Asociación entre las variables

Al realizar un análisis de correlación se observó una asociación en el patrón de expresión entre la STS y la P450arom lo cual se demostró con un análisis de correlación de Spearman ($p = 0.006$) (Tabla 4); asimismo, se obtuvo una asociación positiva entre AR y ERα ($p = 0.024$), siendo aún más significativas la asociación entre AR y PR ($p = 0.001$) (Tabla 5).

Tabla 4 Coeficientes de correlación de Spearman entre las enzimas esteroideogénicas

		17β-HSD1	P450arom	STS
17β-HSD1	Coeficiente de Correlación	1	0.084	0.036
	ρ		0.300	0.658
	N	153	153	153
P450arom	Coeficiente de Correlación	0.084	1	0.221
	ρ	0.300		0.006
	N	153	153	153
STS	Coeficiente de Correlación	0.036	0.221	1
	ρ	0.658	0.006	
	N	153	153	153

* La correlación es significativa a 0.05 (2-colas)

** La correlación es significativa a 0.001

Se muestra el rho de las enzimas esteroideogénicas, en donde la P450arom y la STS se encuentran correlacionadas.

Tabla 5 Coeficientes de correlación de Spearman entre los receptores de hormonas esteroides

		AR	ER α	PR
AR	Coeficiente de Correlación	1	0.181	0.257
	ρ		0.024	0.001
	N	157	157	157
ER α	Coeficiente de Correlación	0.181	1	0.143
	ρ	0.024		0.074
	N	157	157	157
PR	Coeficiente de Correlación	0.257	0.143	1
	ρ	0.001	0.074	
	N	157	157	157

* La correlación es significativa a 0.05 (2-colas)

** La correlación es significativa a 0.001

Se refleja una correlación entre el receptor de andrógenos (AR) y los receptores estrógenos (ER α) y progesterona (PR).

Análisis de sobrevida total

El análisis de las curvas de sobrevida de la población total obtenidas por el análisis de Kaplan-Meier muestra que la presencia de la sulfatasa de esteroides en el tejido tumoral resulta en la disminución de la sobrevida de las pacientes estudiadas por los seis años posteriores al diagnóstico ($p = 0.032$), mientras que la presencia de las enzimas P450arom, 17 β -HSD1 y los receptores AR, ER α , PR no influyen en la sobrevida de las pacientes (Figura 5).

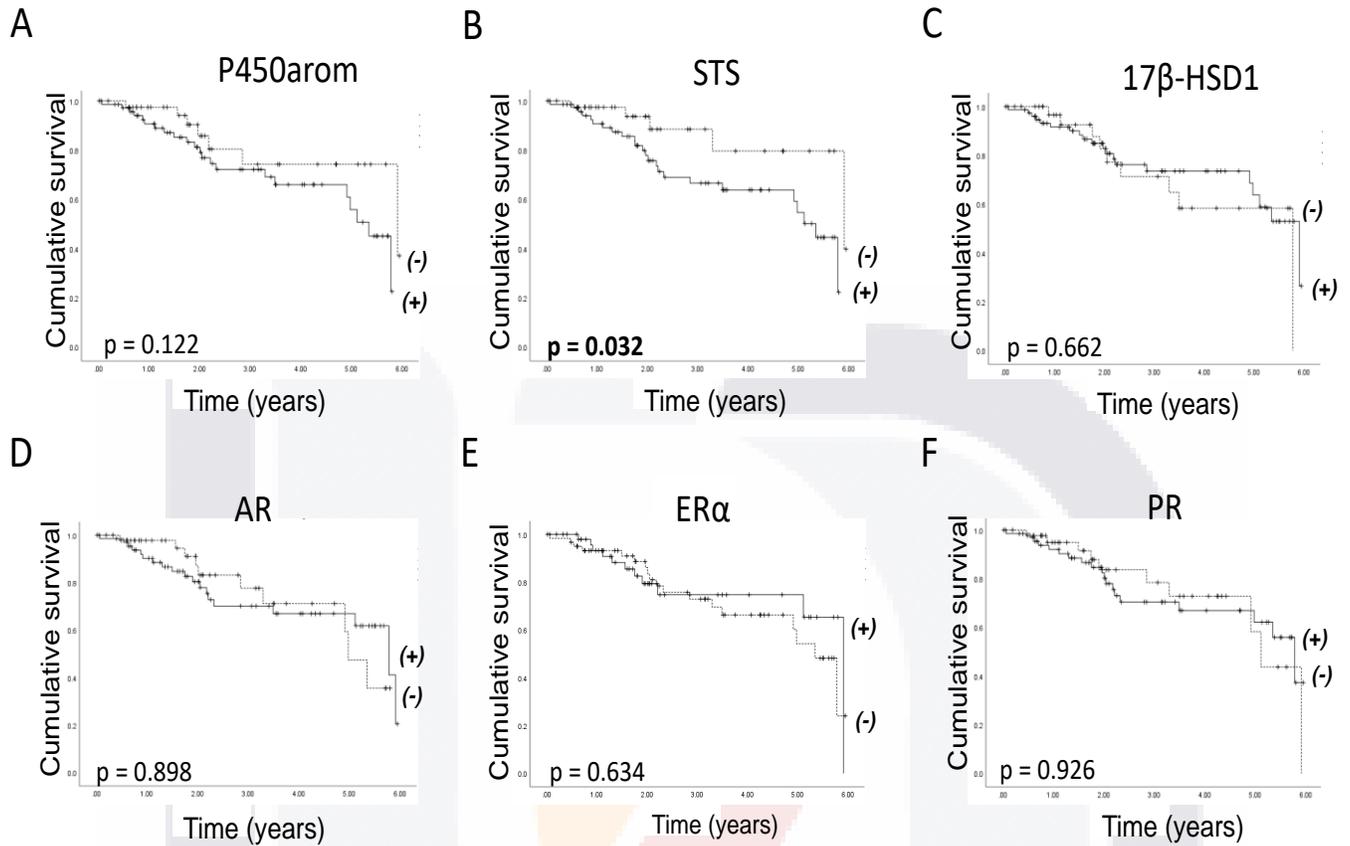


Figura 6. Kaplan-Meier, análisis de sobrevida total en pacientes de acuerdo con la expresión de las enzimas esteroidogénicas (A-C) y los receptores de hormonas esteroides sexuales (D-F).

Análisis de Riesgo

Para determinar el factor de riesgo (HR) en la población de los tumores evaluados, se realizó un análisis de regresión proporcional de Cox univariado. Se obtuvo un aumento del HR para la edad de los pacientes de ($p = 0.009$), para los estadios clínicos FIGO III y IV, con valores de $p = 0.001$ y $p < 0.001$, respectivamente y el tipo de citorreducción subóptima $p < 0.001$. La expresión de P450 arom, 7 β -HSD1, STS y de los receptores AR, ER α y PR no son factores de riesgo de muerte estadísticamente significativos. En el análisis de HR con la regresión de Cox multivariado, tomando como covariables los factores significativos en el análisis univariado, no demostró cambios significativos de HR para las tres enzimas y los tres receptores ya mencionados. Para STS se obtuvo una $p = 0.075$ (Tabla 5).

Estratificación por la presencia de receptores a hormonas esteroides sexuales

Asimismo, al analizar el efecto de la presencia o la ausencia de los receptores a hormonas esteroides sexuales sobre las enzimas capaces de metabolizar a las hormonas esteroides, se decidió estratificar la población en tumores positivos a AR, ER α y PR de los tumores que fueron negativos a su expresión, y se realizaron análisis por Kaplan-Meier y Cox tanto para modelos univariados como multivariados; se observó que la presencia de la sulfatasa de esteroides en la población AR+ disminuye significativamente la sobrevida de las pacientes ($p = 0.011$) y es un factor de riesgo independiente ($p = 0.019$, en el análisis multivariado). En cambio, al analizar la población de tumores negativos para AR no se observó ningún cambio. Para el caso del receptor ER α no se obtuvieron diferencias en la población tanto positiva como negativa al receptor; no obstante, al segregar a la población de tumores PR+ asociados a la presencia de STS se observó una disminución significativa en la sobrevida de las pacientes ($p = 0.046$) y aumenta de manera independiente el HR ($p = 0.026$), mientras que, en la población PR- asociados a STS+ no se observaron cambios. De igual manera, el mismo análisis fue realizado para determinar el efecto de cada uno de los receptores y para las enzimas P450arom y 7 β -HSD1, sin embargo, para el caso de estas últimas, su presencia asociadas a la positividad de los receptores no produjo ningún cambio tanto en la sobrevida como en el HR. Por otra parte, al realizar un estudio en la población categorizada por subtipo histológico, no se encontraron diferencias estadísticas en la sobrevida de las pacientes y en HR para las tres enzimas evaluadas (Figura 6 y Tabla 6).

Tabla 6 Análisis de riesgo proporcional entre la presencia de las enzimas esteroideogénicas, receptores de hormonas esteroideas sexuales y factores clínicos.

Variables	Univariado			Multivariado			
	HR	95% CI	p	HR	95% CI	p	
STS	2.032	0.83 - 4.96	0.119	2.435	0.91 - 6.48	0.075	
P450 arom	1.217	0.55 - 2.65	0.621	1.122	0.50 - 2.49	0.777	
17β-HSD1	0.585	0.27 - 1.24	0.165	0.599	0.27 - 1.28	0.188	
AR	1.126	0.53 - 2.35	0.753	1.170	0.55 - 2.48	0.681	
ERα	0.753	0.36 - 1.53	0.437	0.732	0.35 - 1.50	0.398	
PR	1.076	0.51 - 2.25	0.845	1.079	0.51 - 2.27	0.842	
Edad	1.035	1.00 - 1.06	0.009	1.025	0.99 - 1.05	0.105	
FIGO	I	<i>Referencia</i>					
	II	3.551	0.32 - 2.93	0.301	3.330	0.30 - 36.79	0.326
	III	12.785	2.93 - 56.72	0.001	12.267	2.79 - 53.84	0.001
	IV	26.390	5.69 - 122.3	0.001	20.102	4.24 - 95.22	0.001
Cirugía	5.015	2.16 - 11.64	0.001	-	-	-	

HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval

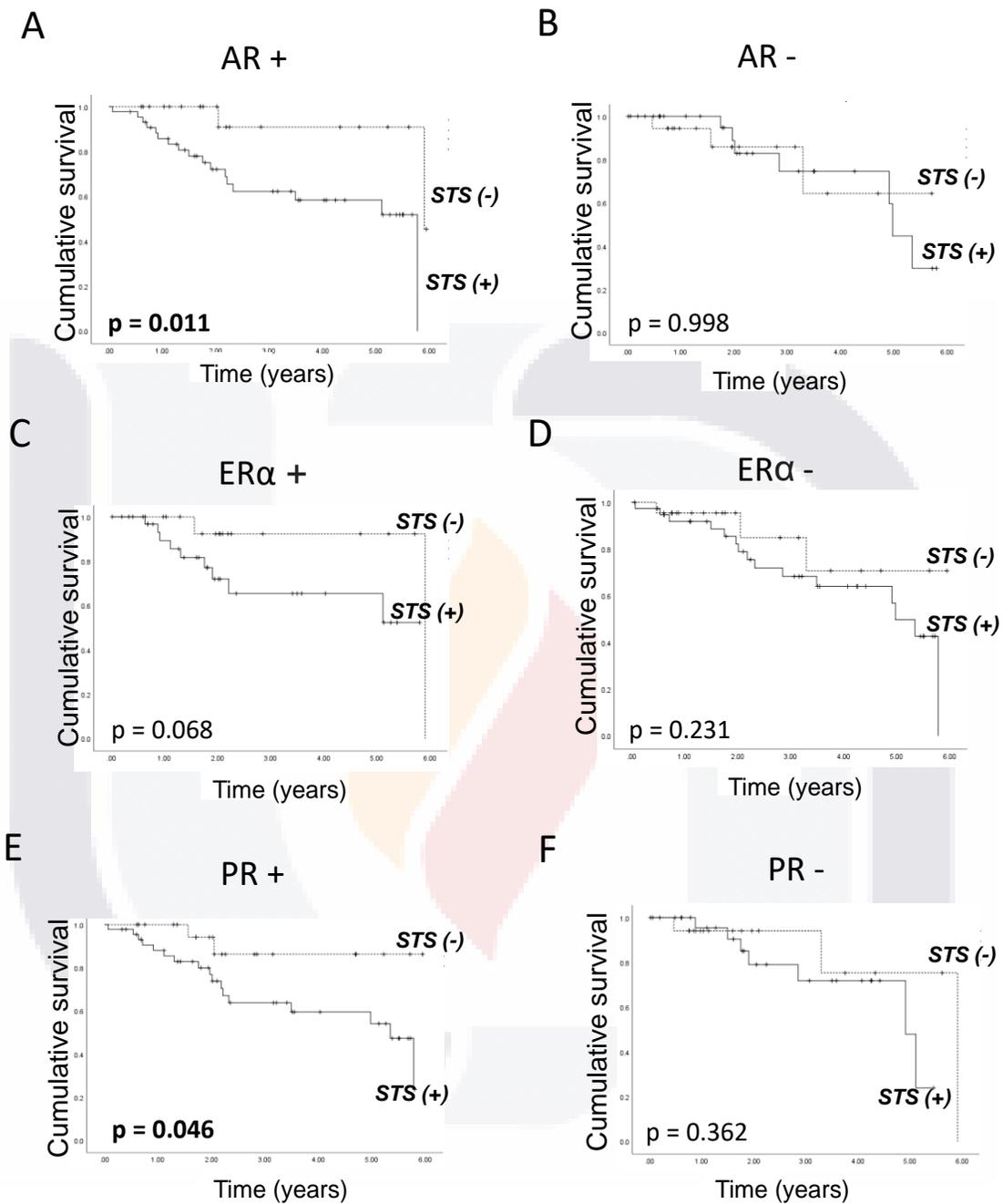


Figura 7. Análisis de supervida por Kaplan-Meier se observa la supervida total de las pacientes de acuerdo con el grado de expresión de los receptores de hormonas esteroides (A-E) se observa la expresión positiva de AR, ER α y PR asociados a STS+ (B-F) ausencia de los receptores AR, ER α y PR asociados a STS+.

Tabla 7 Análisis de riesgo proporcional para la sulfatasa de esteroides en pacientes estratificadas por la presencia de receptores esteroides en los tumores epiteliales de ovario.

Receptor	Univariado			Multivariado		
	HR	95% CI	p	HR	95% CI	p
STS / AR (+)	3.463	1.00 - 11.92	0.049	5.917	1.34 - 26.09	0.019
STS / AR (-)	0.766	0.19 - 2.94	0.697	1.033	0.19 - 5.49	0.970
STS / ER α (+)	1.787	0.49 - 6.50	0.378	3.336	0.68 - 16.22	0.136
STS / ER α (-)	2.163	0.62 - 7.48	0.223	1.756	0.49 - 6.24	0.384
STS / PR (+)	3.424	1.00 - 11.72	0.050	5.567	1.23 - 25.19	0.026
STS / PR (-)	0.755	0.19 - 2.93	0.685	0.879	0.21 - 3.53	0.856

El análisis muestra el factor de riesgo entre la expresión de la STS y los receptores de hormonas esteroides sexuales, en donde se mantiene el grado de significancia para AR y PR, **STS** = sulfatasa de esteroides **AR** = receptor de andrógenos, **ER α** = receptor de estrógenos alfa, **PR** = receptor de progesterona.

Discusión

La distribución de tumores obtenida se apega a la reportada previamente en mujeres mexicanas y concuerda con estudios anteriores realizados por Gómora et al., 2018; Morales-Vásquez et al., 2016, con un predominio de los tumores serosos, con una frecuencia del 56% para tumores del subtipo seroso, 23% para el endometriode, 10% para el subtipo mucinoso, 5% para células claras y 6% para otro tipo carcinomas de ovario y es similar a la encontrada para tumores epiteliales de ovario por otros autores (Jayson et al., 2014; Prat, 2012; Zeppernick and Meinhold-Heerlein, 2014; Itamochi et al., 2008). Para el presente estudio, la mediana de edad de las pacientes fue de 49 años, representando una aparición prematura de la enfermedad en esta población, debido a que, en países como Italia, Estados Unidos y China refieren una mediana a los 60 años a partir del diagnóstico (Cannistra, 2004; Chen et al., 2017a; Testa et al., 2018), este hecho puede atribuirse al alto porcentaje de mujeres con obesidad en el país, factor que se ha relacionado con diversos tipos de cáncer en la mujer, entre ellos el de ovario (Olsen et al., 2008).

Cada muestra obtenida de las pacientes fue evaluada para determinar la presencia de las enzimas esteroideogénicas por técnicas de inmunodetección, obteniendo una frecuencia de expresión superior al 60%, estudios previos muestran resultados muy variables sobre la presencia de cada una de estas en tumores de ovario que van desde el 48% hasta del 97% en los carcinomas de ovario (Brodowska et al., 2014; Chura et al., 2009; Kitawaki et al., 1996; Mungenast et al., 2017; Okuda et al., 2001; Szajnik et al., 2012); pese a que existe una gran diversidad en los estudios reportados en cuanto a la presencia de estas enzimas, se han determinado niveles elevados del ARNm de estas enzimas tanto en líneas celulares como en carcinomas de ovario (Cunat et al., 2005) lo cual sugiere estas enzimas están siendo sintetizadas de manera intratumoral en diversos tipos de cáncer (Bulun et al., 2007; Labrie, 2015; Mungenast et al., 2017; Nakata et al., 2003), lo que representó un impacto directo en el uso de antagonistas o inhibidores contra estas enzimas. Diversas pruebas clínicas refieren a los inhibidores DP-916 contra la 17 β -HSD, el STX64 o el DP-913 ambos específicos para STS (Chura et al., 2009; Day et al., 2009); muchos de estos estudios aún se encuentran en fases preclínicas; sin embargo, los inhibidores de la aromatasa son más utilizados debido a que estos ya han sido aplicados en pacientes con cáncer epitelial de ovario como terapia adyuvante (Bowman et al., 2002; Papadimitriou et al., 2004; Sapiezynski et al., 2016).

En el presente estudio, al correlacionar a cada una de estas enzimas con la historia clínica de las pacientes, la P450 aromatasa 17 β -HSD1 no reflejaron ningún tipo de cambio en la sobrevida global de las pacientes, sin embargo, un estudio realizado en el 2012 por Szajnik y colaboradores, determinaron por inmunohistoquímica una mayor intensidad en la tinción de la 17 β -HSD1 en estadios más avanzados de la enfermedad, mientras que las pacientes con una tinción moderada reflejaban una mejor sobrevida; por otra parte, en el caso de la P450 arom, estudios previos demostraron que la expresión de esta enzima se asociaba a diversos genes implicados en la progresión tumoral, mismos que se relacionaron con niveles elevados de CA125 (Walker et al., 2007). Por otra parte, el presente estudio demuestra que las pacientes con tumores de ovario positivos para la STS tienen una sobrevida menor con respecto a aquellas que no la expresaron, lo cual concuerda con estudios por diversos grupos de trabajo (Chura et al., 2009; Okuda et al., 2001), esto se atribuye principalmente a la función que desempeña la enzima al hidrolizar la estrona sulfatada y liberarla de los grupos sulfato, con ello poder ser biotransformada a 17 β estradiol, el cual se ha asociado a diversos procesos relacionados con proliferación, migración, TEM, activación de sus receptores (Chuffa et al., 2017; Mungenast and Thalhammer, 2014). Asimismo, diversas mutaciones de esta enzima, provocadas por deleciones que impiden su unión al sustrato, ha tenido implicaciones clínicas importantes tanto en cáncer de endometrio como de ovario (Matsuoka et al., 2002), de igual manera, STS está estrechamente relacionada con citocinas proinflamatorias como IL-6 y TNF α , las cuales incrementan su actividad en cáncer de ovario, ambas citocinas se han relacionado con el desarrollo de cáncer epitelial de ovario, además de reflejar un peor pronóstico y menor periodo libre de enfermedad de las pacientes (Kolomeyevskaya et al., 2015; Matsuoka et al., 2002),

Al evaluar a los receptores de hormonas esteroideas sexuales, se observó que se encuentran presentes en todos los subtipos histológicos, con una frecuencia de expresión semejante a los reportados por Gómora y colaboradores en el 2018 para una población mexicana, siendo el AR y PR los que más se expresaron en los tumores con un 58%, mientras que el ER α se expresó un 47%, hecho que concuerda con lo informado por otros autores (Chen et al., 2017a; Lee et al., 2005; Zhu et al., 2016). Cada uno de estos receptores ha sido asociado por su posible asociación en algunos subtipos histológicos, tal es el caso del AR el cual se expresa principalmente en tumores serosos, para este estudio el 64% de estos tumores fue positivo para este receptor, en el caso del PR y ER α se han visto

principalmente asociados al subtipo endometriode, esto podría deberse a que estos receptores participan en la regulación de los ciclos sexuales durante la etapa reproductiva en el endometrio (Chen et al., 2017a; Mahendra Dewi and Ekawati, 2020; Pedernera et al., 2019), además de que se ha propuesto a que este subtipo podría estar relacionado con tejido endometrial no sólo por sus características histológicas si no a diversas mutaciones en genes relacionados a tumores de endometrio, como *ARIDA1A*, el cual se ha asociado también a tumores de células claras (Wiegand et al., 2010b) asimismo, tanto para PR como para ER α se observó un bajo número de tumores mucinosos positivos, lo cual concuerda con estudios realizados por Arias-Pulido y colaboradores en el 2009. Por otra parte, al evaluar su expresión con el historial clínico de las pacientes, no se encontraron diferencias en la evolución de la enfermedad con y sin la presencia de los receptores, no obstante, diversos trabajos apoyan la idea de que la expresión de estos receptores podrían ser favorables para la sobrevida de las pacientes, tal es el caso del AR lo catalogan como un marcador de buen pronóstico (Jönsson et al., 2015; Nodin et al., 2010), sin embargo, en la mayoría de los casos los andrógenos y su receptor han sido vinculados principalmente a procesos que promueven la carcinogénesis del ESO y de quistes de inclusión cortical, tales como, proliferación, TEM, diferenciación celular y mutaciones asociadas a repeticiones en el polimorfismos en CAG asociadas al AR (Evangelou et al., 2000; Modugno et al., 2012; Zhu et al., 2017); en otro estudio reciente reportado por (Morales-Vásquez et al., 2020), se determinó que la participación del AR asociado con expresión de la metaloproteinasa tipo 2 (MMP-2) reflejaban un pronóstico desfavorable en la sobrevida total de las pacientes. Por otro lado, en el caso de los receptores de progesterona y estrógenos, estudios basados en metaanálisis determinan que son factores que mejoran la sobrevida de las pacientes reflejando un mejor pronóstico, sin embargo, para el caso particular del ER α , también ha sido asociado con diversos tipos de cáncer, principalmente mama y endometrio en los cuales reportan a este marcador como de mal pronóstico; por otro lado, para el PR su expresión se ha asociado con mayor periodo libre de enfermedad y sobrevida total (Chen et al., 2017b; Jönsson et al., 2015; Lee et al., 2005; Sieh et al., 2013).

Otros aspectos que se evaluaron en este estudio fue la posible relación entre la expresión de las enzimas y los receptores de hormonas esteroideas sexuales. El análisis de sobrevida por Kaplan-Meier y el análisis de regresión logística por Cox reflejaron que la presencia de la STS es un factor de mal pronóstico para las pacientes, debido a que su expresión se relaciona con una menor sobrevida de

las pacientes, asimismo, al ser asociada a la expresión de los receptores de hormonas esteroides sexuales, se observó que en el caso de AR y PR la sobrevida total de las pacientes fue menor con respecto a que aquellas que no los expresaban, sin embargo, la importancia de estos resultados radica en que la presencia de la STS representa un factor de riesgo independiente para las pacientes que desarrollan cáncer epitelial de ovario, lo cual podría tener un impacto en la toma de decisiones clínicas para el tratamiento de estas mujeres, además de que su asociación con los receptores AR y PR también reflejan una relación directa entre el riesgo de muerte y una significativa disminución en la sobrevida de las pacientes a los 6 años posteriores a su diagnóstico. A pesar de que hay poca información que describa el proceso por el cual la asociación entre estas proteínas se lleve a cabo, diversos trabajos atribuyen su probable relación con el funcionamiento entre este receptor y la enzima en el endometrio, debido a que en condiciones fisiológicas la expresión de la STS se ve modificada en la fase secretora tardía regulada principalmente por progesterona y su receptor (Colette et al., 2013), asimismo, se ha descrito que la STS se encuentra mediada por cierto tipo de citocinas proinflamatorias, tales como, IL-1 α , IL-1 β y IL-6, las cuales actúan disminuyendo la expresión de la enzima y sobre expresando al PR en cáncer de endometrio (Bulun et al., 2010; Matsuoka et al., 2002; Smith et al., 2018). Por otra lado, en el caso del AR puede estar estimulado de manera intratumoral; por ejemplo, la producción de DHT y DHEA a partir de DHEAS ha sido demostrado en un estudio por Wu et al., 2019, en las líneas celulares de cáncer de próstata (VcaPy LAPC-4) determinando un efecto en la transactivación del AR a partir de estimulación con DHEAS; en el mismo estudio, utilizando ratones demostraron que las células tumorales utilizan DHEAS y DHEA (por acción de la STS) para la obtención de DHT y de esta manera facilitar la unión de esta hormona al AR y con ello permitir la estimulación en el crecimiento tumoral; además de que, citocinas como IL-6 pueden promover la activación del AR independiente del ligando en este tipo de cáncer (Zhu et al., 2017), en otros casos se ha reportado en cáncer de ovario a los andrógenos como promotores en la proliferación celular debido al incremento de IL-6 y IL-8, las cuales promueven el crecimiento tumoral por la activación de promotores del AR induciendo la degradación de p21 y con ello mayor proliferación celular (Shao, 2011; Wang et al., 2007).

Estos resultados indican la importancia de la presencia de las enzimas que participan en la esteroidogénesis en el interior de los tumores de ovario, demostrando que la presencia de la STS podría ser un marcador independiente de pronóstico para las pacientes, ya que su expresión

representa un factor de riesgo de muerte para las pacientes cuando está presente con AR y PR y se relaciona a un pronóstico desfavorable para las pacientes con cáncer epitelial de ovario.

Por otra parte, se determinó que el riesgo de muerte en la población evaluada aumenta 26 veces más en estadio clínico IV de la enfermedad y la realización de una cirugía subóptima incrementa la probabilidad de muerte por cáncer de ovario 5 veces más con respecto a una de tipo óptima, lo que está de acuerdo con lo descrito en la literatura (Dinkelspiel et al., 2015; Lluca et al., 2018).

Conclusiones

- La distribución de los tumores de ovario de la población estudiada concuerda a la descrita anteriormente para mujeres mexicanas y se relaciona con lo reportado en literatura internacional.
- Las enzimas P450arom, STS y 17 β -HSD1 y los receptores AR, ER α y PR se expresan en los tres subtipos histológicos de CEO.
- La expresión de las enzimas P450arom, STS y 17 β -HSD1 y AR, ER α no presentan cambios significativos en los subtipos histológicos con diferentes grados de malignidad tumoral.
- El tiempo de supervivencia de las pacientes es menor con la expresión de STS.
- La expresión de la STS puede ser considerada como factor de riesgo independiente para las pacientes con cáncer epitelial de ovario y se relaciona a la presencia de AR y PR.
- Se observó que el riesgo de muerte incrementa 26 veces más en pacientes en estadio clínico IV.
- El factor de riesgo en pacientes con cirugía subóptima aumenta 5 veces más la probabilidad de muerte.

Perspectivas

Es necesario investigar más a fondo el papel de las enzimas que participan en la esteroidogénesis, así como el metabolismo de los esteroides sulfatados, de tal manera que se pueda conocer su asociación con la presencia de los receptores de hormonas esteroides sexuales en carcinomas de ovario, y con ello, en un futuro puedan ser utilizados en la toma de decisiones clínicas como probables marcadores de pronóstico para el beneficio de las pacientes con cáncer epitelial de ovario.

Referencias

1. Ali, A.T., 2018. Towards prevention of ovarian cancer. *Curr. Cancer Drug Targets* 18. <https://doi.org/10.2174/1568009618666180102103008>
2. Amenyoobe, E., Chen, G., Wang, Z., Lu, X., Lin, M., Lin, A.Y., 2020. A Review on Sex Steroid Hormone Estrogen Receptors in Mammals and Fish. *Int. J. Endocrinol.* 2020, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/5386193>
3. Andersen, C.Y., Ezcurra, D., 2014. Human steroidogenesis: implications for controlled ovarian stimulation with exogenous gonadotropins. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 12, 128. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-128>
4. Arias-Pulido, H., Smith, H.O., Joste, N.E., Bocklage, T., Qualls, C.R., Chavez, A., Prossnitz, E.R., Verschraegen, C.F., 2009. Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors. *Gynecol. Oncol.* 114, 480–485. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2009.05.045>
5. Ataei, N., Aghaei, M., Panjehpour, M., 2019. Evidences for involvement of estrogen receptor induced ERK1/2 activation in ovarian cancer cell proliferation by Cadmium Chloride. *Toxicol. In Vitro* 56, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.01.015>
6. Badowska-Kozakiewicz, A.M., Patera, J., Sobol, M., Przybylski, J., 2015. The role of oestrogen and progesterone receptors in breast cancer – immunohistochemical evaluation of oestrogen and progesterone receptor expression in invasive breast cancer in women. *Współczesna Onkol.* 3, 220–225. <https://doi.org/10.5114/wo.2015.51826>
7. Bell, D., Berchuck, A., Birrer, M., Chien, J., Cramer, D.W., Dao, F., Dhir, R., DiSaia, P., Gabra, H., Glenn, P., Godwin, A.K., Gross, J., Hartmann, L., Huang, M., Huntsman, D.G., Iacocca, M., Imielinski, M., Kalloger, S., Karlan, B.Y., Levine, D.A., Mills, G.B., Morrison, C., Mutch, D., Olvera, N., Orsulic, S., Park, K., Petrelli, N., Rabeno, B., Rader, J.S., Sikic, B.I., Smith-McCune, K., Sood, A.K., Bowtell, D., Penny, R., Testa, J.R., Chang, K., Dinh, H.H., Drummond, J.A., Fowler, G., Gunaratne, P., Hawes, A.C., Kovar, C.L., Lewis, L.R., Morgan, M.B., Newsham, I.F., Santibanez, J., Reid, J.G., Trevino, L.R., Wu, Y.-Q., Wang, M., Muzny, D.M., Wheeler, D.A., Gibbs, R.A., Getz, G., Lawrence, M.S., Cibulskis, K., Sivachenko, A.Y., Sougnez, C., Voet, D., Wilkinson, J., Bloom, T., Ardlie, K., Fennell, T., Baldwin, J., Gabriel, S., Lander, E.S., Ding, L., Fulton, R.S., Koboldt, D.C., McLellan, M.D., Wylie, T., Walker, J., O’Laughlin, M., Dooling, D.J., Fulton, L., Abbott, R., Dees, N.D., Zhang, Q., Kandoth, C., Wendl, M., Schierding, W., Shen, D., Harris, C.C., Schmidt, H., Kalicki, J., Delehaunty, K.D., Fronick, C.C., Demeter, R., Cook, L., Wallis, J.W., Lin, L., Magrini, V.J., Hodges, J.S., Eldred, J.M., Smith, S.M., Pohl, C.S., Vandin, F., Raphael, B.J., Weinstock, G.M., Mardis, E.R., Wilson, R.K., Meyerson, M., Winckler, W., Getz, G., Verhaak, R.G.W., Carter, S.L., Mermel, C.H., Saksena, G., Nguyen, H., Onofrio, R.C., Lawrence, M.S., Hubbard, D., Gupta, S., Crenshaw, A., Ramos, A.H., Ardlie, K., Chin, L., Protopopov, A., Zhang, Juinhua, Kim, T.M., Perna, I., Xiao, Y., Zhang, H., Ren, G., Sathiamoorthy, N., Park, R.W., Lee, E., Park, P.J., Kucherlapati, R., Absher, D.M., Waite, L., Sherlock, G., Brooks, J.D., Li, J.Z., Xu, J., Myers, R.M., Laird, P.W., Cope, L., Herman, J.G., Shen, H., Weisenberger, D.J., Noushmehr, H., Pan, F., Triche Jr, T., Berman, B.P., Van Den Berg, D.J., Buckley, J., Baylin, S.B., Spellman, P.T., Purdom, E., Neuvial, P., Bengtsson, H., Jakkula, L.R., Durinck, S., Han, J., Dorton, S., Marr, H., Choi, Y.G., Wang, V., Wang, N.J., Ngai, J., Conboy, J.G., Parvin, B., Feiler, H.S., Speed, T.P., Gray, J.W., Levine, D.A., Socci, N.D., Liang, Y., Taylor, B.S., Schultz, N., Borsu, L., Lash, A.E., Brennan, C., Viale, A., Sander, C., Ladanyi, M., Hoadley, K.A., Meng, S., Du, Y., Shi, Y., Li, L., Turman, Y.J., Zang, D., Helms, E.B., Balu, S., Zhou, X., Wu, J., Topal, M.D., Hayes, D.N., Perou, C.M., Getz, G., Voet, D., Saksena, G., Zhang, Junihua, Zhang, H., Wu, C.J., Shukla, S., Cibulskis, K., Lawrence, M.S., Sivachenko, A., Jing, R., Park, R.W., Liu, Y., Park, P.J., Noble, M., Chin, L., Carter, H., Kim, D., Karchin, R., Spellman, P.T., Purdom,

E., Neuvial, P., Bengtsson, H., Durinck, S., Han, J., Korkola, J.E., Heiser, L.M., Cho, R.J., Hu, Z., Parvin, B., Speed, T.P., Gray, J.W., Schultz, N., Cerami, E., Taylor, B.S., Olshen, A., Reva, B., Antipin, Y., Shen, R., Mankoo, P., Sheridan, R., Ciriello, G., Chang, W.K., Bernanke, J.A., Borsu, L., Levine, D.A., Ladanyi, M., Sander, C., Haussler, D., Benz, C.C., Stuart, J.M., Benz, S.C., Sanborn, J.Z., Vaske, C.J., Zhu, J., Szeto, C., Scott, G.K., Yau, C., Hoadley, K.A., Du, Y., Balu, S., Hayes, D.N., Perou, C.M., Wilkerson, M.D., Zhang, N., Akbani, R., Baggerly, K.A., Yung, W.K., Mills, G.B., Weinstein, J.N., Penny, R., Shelton, T., Grimm, D., Hatfield, M., Morris, S., Yena, P., Rhodes, P., Sherman, M., Paulauskis, J., Millis, S., Kahn, A., Greene, J.M., Sfeir, R., Jensen, M.A., Chen, J., Whitmore, J., Alonso, S., Jordan, J., Chu, A., Zhang, Jinghui, Barker, A., Compton, C., Eley, G., Ferguson, M., Fielding, P., Gerhard, D.S., Myles, R., Schaefer, C., Mills Shaw, K.R., Vaught, J., Vockley, J.B., Good, P.J., Guyer, M.S., Ozenberger, B., Peterson, J., Thomson, E., 2011. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 474, 609–615. <https://doi.org/10.1038/nature10166>

8. Blakemore, J., Naftolin, F., 2016. Aromatase: Contributions to Physiology and Disease in Women and Men. *Physiology* 31, 258–269. <https://doi.org/10.1152/physiol.00054.2015>
9. Boron, W.F., Boulpaep, E.L. (Eds.), 2012. *Medical physiology: a cellular and molecular approach*, Updated second edition. ed. Saunders/Elsevier, Philadelphia, PA.
10. Bottino, M.C., Lanari, C., 2010. Localización extra nuclear de receptores esteroides y activación de mecanismos no genómicos. *Med. B. Aires* 70, 173–184.
11. Bowman, A., Gabra, H., Langdon, S.P., Lessells, A., Stewart, M., Young, A., Smyth, J.F., 2002. CA125 response is associated with estrogen receptor expression in a phase II trial of letrozole in ovarian cancer: identification of an endocrine-sensitive subgroup. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 8, 2233–2239.
12. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal, A., 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* 68, 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
13. Brett M., R., Jennifer B., P., Thomas A., S., Brett M., R., Jennifer B., P., Thomas A., S., 2017. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol. Med.* 14, 9–32. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084>
14. Brodowska, A., Brodowski, J., Laszczyńska, M., Słucznanowska-Głabowska, S., Rumianowski, B., Rotter, I., Starczewski, A., Ratajczak, M.Z., 2014. Immunoexpression of aromatase cytochrome P450 and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in women's ovaries after menopause. *J. Ovarian Res.* 7, 52. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-7-52>
15. Bulun, S., Cheng, Y.-H., Pavone, M., Yin, P., Imir, G., Utsunomiya, H., Thung, S., Xue, Q., Marsh, E., Tokunaga, H., Ishikawa, H., Kurita, T., Su, E., 2010. 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase-2 Deficiency and Progesterone Resistance in Endometriosis. *Semin. Reprod. Med.* 28, 044–050. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1242992>
16. Bulun, S.E., Chen, D., Lu, M., Zhao, H., Cheng, Y., Demura, M., Yilmaz, B., Martin, R., Utsunomiya, H., Thung, S., Su, E., Marsh, E., Hakim, A., Yin, P., Ishikawa, H., Amin, S., Imir, G., Gurates, B., Attar, E., Reierstad, S., Innes, J., Lin, Z., 2007. Aromatase excess in cancers of breast, endometrium and ovary. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 106, 81–96. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2007.05.027>
17. Bulun, S.E., Lin, Z., Zhao, H., Lu, M., Amin, S., Reierstad, S., Chen, D., 2009. Regulation of Aromatase Expression in Breast Cancer Tissue. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1155, 121–131. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.03705.x>
18. Burger, H.G., 2002. Androgen production in women. *Fertil. Steril.* 77, 3–5.
19. Cannistra, S.A., 2004. Cancer of the Ovary. *N. Engl. J. Med.* 351, 2519–2529. <https://doi.org/10.1056/NEJMra041842>
20. Chan, K.K.L., Siu, M.K.Y., Jiang, Y., Wang, J., Wang, Y., Leung, T.H.Y., Liu, S.S., Cheung, A.N.Y., Ngan, H.Y.S., 2017. Differential expression of estrogen receptor subtypes and variants in ovarian cancer: effects on cell invasion, proliferation and prognosis. *BMC Cancer* 17. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3601-1>
21. Chen, C., Gong, X., Yang, X., Shang, X., Du, Q., Liao, Q., Xie, R., Chen, Y., Xu, J., 2019. The roles of

- estrogen and estrogen receptors in gastrointestinal disease (Review). *Oncol. Lett.* <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10983>
22. Chen, S., Dai, X., Gao, Y., Shen, F., Ding, J., Chen, Q., 2017a. The positivity of estrogen receptor and progesterone receptor may not be associated with metastasis and recurrence in epithelial ovarian cancer. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17265-6>
 23. Chen, S., Dai, X., Gao, Y., Shen, F., Ding, J., Chen, Q., 2017b. The positivity of estrogen receptor and progesterone receptor may not be associated with metastasis and recurrence in epithelial ovarian cancer. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17265-6>
 24. Cheng, J., Lee, E.J., Madison, L.D., Lazennec, G., 2004. Expression of estrogen receptor β in prostate carcinoma cells inhibits invasion and proliferation and triggers apoptosis. *FEBS Lett.* 566, 169–172. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.04.025>
 25. Cho, K.R., Shih, I.-M., 2009. Ovarian Cancer. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 4, 287–313. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092246>
 26. Chuffa, L.G. de A., Lupi-Júnior, L.A., Costa, A.B., Amorim, J.P. de A., Seiva, F.R.F., 2017. The role of sex hormones and steroid receptors on female reproductive cancers. *Steroids* 118, 93–108. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.12.011>
 27. Chura, J.C., Blomquist, C.H., Ryu, H.S., Argenta, P.A., 2009. Estrone sulfatase activity in patients with advanced ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 112, 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.08.037>
 28. Colette, S., Defrère, S., Van Kerk, O., Van Langendonck, A., Dolmans, M.-M., Donnez, J., 2013. Differential expression of steroidogenic enzymes according to endometriosis type. *Fertil. Steril.* 100, 1642–1649. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.08.003>
 29. Cuevas-Covarrubias, S.A., Juárez-Oropeza, M.A., Miranda-Zamora, R., Díaz-Zagoya, J.C., 1993. Comparative analysis of human steroid sulfatase activity in prepubertal and postpubertal males and females. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 30, 691–695.
 30. Cunat, S., Rabenoelina, F., Daurès, J.-P., Katsaros, D., Sasano, H., Miller, W.R., Maudelonde, T., Pujol, P., 2005. Aromatase expression in ovarian epithelial cancers. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 93, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2004.10.021>
 31. Cutolo, M., Capellino, S., Sulli, A., Seriola, B., Secchi, M.E., Villaggio, B., Straub, R.H., 2006. Estrogens and Autoimmune Diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1089, 538–547. <https://doi.org/10.1196/annals.1386.043>
 32. Day, J.M., Purohit, A., Tutill, H.J., Foster, P.A., Woo, L.W.L., Potter, B.V.L., Reed, M.J., 2009. The development of steroid sulfatase inhibitors for hormone-dependent cancer therapy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1155, 80–87. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2008.03677.x>
 33. De León, D.F.C., 2011. Cáncer Epitelial de Ovario. *Cancerología* 6, 53–60.
 34. Diep, C.H., Daniel, A.R., Mauro, L.J., Knutson, T.P., Lange, C.A., 2015. Progesterone action in breast, uterine, and ovarian cancers. *J. Mol. Endocrinol.* 54, R31–R53. <https://doi.org/10.1530/JME-14-0252>
 35. Dinkelspiel, H.E., Champer, M., Hou, J., Tergas, A., Burke, W.M., Huang, Y., Neugut, A.I., Ananth, C.V., Hershman, D.L., Wright, J.D., 2015. Long-term mortality among women with epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 138, 421–428. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.06.005>
 36. Evangelou, A., Jindal, S.K., Brown, T.J., Letarte, M., 2000. Down-regulation of transforming growth factor beta receptors by androgen in ovarian cancer cells. *Cancer Res.* 60, 929–935.
 37. Farzaneh, F., Noghabaei, G., Barouti, E., Pouresmaili, F., Jamshidi, J., Fazeli, A., Taghavi, S., Emamalizadeh, B., Darvish, H., 2016. Analysis of CYP17, CYP19 and CYP1A1 Gene Polymorphisms in Iranian Women with Breast Cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 17, 23–26. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.S3.23>
 38. Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., Bray, F., 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012: Globocan 2012. *Int. J. Cancer* 136, E359–E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>
 39. Finco, I., LaPensee, C.R., Krill, K.T., Hammer, G.D., 2015. Hedgehog Signaling and Steroidogenesis. *Annu. Rev. Physiol.* 77, 105–129. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-061214-111754>
 40. Findlay, J.K., Liew, S.H., Simpson, E.R., Korach, K.S., 2010. Estrogen Signaling in the Regulation of Female

- Reproductive Functions, in: Habenicht, U.-F., Aitken, R.J. (Eds.), *Fertility Control, Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 29–35. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02062-9_2
41. Foster, P.A., Woo, L.W.L., Potter, B.V.L., Reed, M.J., Purohit, A., 2008. The Use of Steroid Sulfatase Inhibitors as a Novel Therapeutic Strategy Against Hormone-Dependent Endometrial Cancer. *Endocrinology* 149, 4035–4042. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0223>
 42. Fuentes, N., Silveyra, P., 2019. Estrogen receptor signaling mechanisms, in: *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. Elsevier, pp. 135–170. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>
 43. Gallardo-Rincón, D., Espinosa-Romero, R., Muñoz, W.R., Mendoza-Martínez, R., del Villar-Álvarez, S., Oñate-Ocaña, L., Isla-Ortiz, D., Márquez-Manríquez, J.P., Apodaca-Cruz, Á., Meneses-García, A., 2016. Panorama epidemiológico, avances diagnósticos, prevención, tratamiento y manejo de cáncer ovárico epitelial en México. *Salud Pública México* 58, 302–309.
 44. Gemignani, M.L., Schlaerth, A.C., Bogomolny, F., Barakat, R.R., Lin, O., Soslow, R., Venkatraman, E., Boyd, J., 2003. Role of KRAS and BRAF gene mutations in mucinous ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 90, 378–381. [https://doi.org/10.1016/S0090-8258\(03\)00264-6](https://doi.org/10.1016/S0090-8258(03)00264-6)
 45. Georget, V., Térouanne, B., Nicolas, J.-C., Sultan, C., 2002. Mechanism of Antiandrogen Action: Key Role of Hsp90 in Conformational Change and Transcriptional Activity of the Androgen Receptor †. *Biochemistry* 41, 11824–11831. <https://doi.org/10.1021/bi0259150>
 46. Gibson, D.A., Simitsidellis, I., Collins, F., Saunders, P.T.K., 2014. Evidence of androgen action in endometrial and ovarian cancers. *Endocr. Relat. Cancer* 21, T203–T218. <https://doi.org/10.1530/ERC-13-0551>
 47. Goldstein, I., Traish, A., Kim, N., Munarriz, R., 2004. The Role of Sex Steroid Hormones in Female Sexual Function and Dysfunction: *Clin. Obstet. Gynecol.* 47, 471–484. <https://doi.org/10.1097/00003081-200406000-00022>
 48. Gómora, M.J., Morales-Vásquez, F., Pedernera, E., Perez-Montiel, D., López-Basave, H., Villa, A.R., Hernández-Martínez, A., Mena, E., Mendez, C., 2018. Sexual steroid hormone receptors profiles of ovarian carcinoma in Mexican women. *Endocr. Connect.* 7, 1006–1012. <https://doi.org/10.1530/EC-18-0158>
 49. Hagan, C.R., Daniel, A.R., Dressing, G.E., Lange, C.A., 2012. Role of phosphorylation in progesterone receptor signaling and specificity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 357, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.09.017>
 50. Hart, R., Hickey, M., Franks, S., 2004. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 18, 671–683. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2004.05.001>
 51. Hauptmann, S., Friedrich, K., Redline, R., Avril, S., 2017. Ovarian borderline tumors in the 2014 WHO classification: evolving concepts and diagnostic criteria. *Virchows Arch.* 470, 125–142. <https://doi.org/10.1007/s00428-016-2040-8>
 52. Hayes, C.E., Spanier, J.A., 2017. Multiple Sclerosis in Women, in: *Nutrition and Lifestyle in Neurological Autoimmune Diseases*. Elsevier, pp. 81–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805298-3.00010-4>
 53. Heldring, N., Pike, A., Andersson, S., Matthews, J., Cheng, G., Hartman, J., Tujague, M., Ström, A., Treuter, E., Warner, M., Gustafsson, J.-Å., 2007. Estrogen Receptors: How Do They Signal and What Are Their Targets. *Physiol. Rev.* 87, 905–931. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2006>
 54. Hong, Y., Chen, S., 2011. Aromatase, estrone sulfatase, and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase: Structure–function studies and inhibitor development. *Mol. Cell. Endocrinol.* 340, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.09.012>
 55. Hu, J., Zhang, Z., Shen, W.-J., Azhar, S., 2010. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr. Metab.* 7, 47.
 56. Husen, B., Huhtinen, K., Saloniemi, T., Messinger, J., Thole, H.H., Poutanen, M., 2006. Human Hydroxysteroid (17- β) Dehydrogenase 1 Expression Enhances Estrogen Sensitivity of MCF-7 Breast Cancer Cell Xenografts. *Endocrinology* 147, 5333–5339. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0778>
 57. Itamochi, H., Kigawa, J., Terakawa, N., 2008. Mechanisms of chemoresistance and poor prognosis in

- ovarian clear cell carcinoma. *Cancer Sci.* 99, 653–658. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2008.00747.x>
58. Jayson, G.C., Kohn, E.C., Kitchener, H.C., Ledermann, J.A., 2014. Ovarian cancer. *The Lancet* 384, 1376–1388.
 59. Jönsson, J.-M., Skovbjerg Arildsen, N., Malander, S., Måsbäck, A., Hartman, L., Nilbert, M., Hedenfalk, I., 2015. Sex Steroid Hormone Receptor Expression Affects Ovarian Cancer Survival. *Transl. Oncol.* 8, 424–433. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2015.09.002>
 60. Kitawaki, J., Noguchi, T., Yamamoto, T., Yokota, K., Maeda, K., Urabe, M., Honjo, H., 1996. Immunohistochemical localisation of aromatase and its correlation with progesterone receptors in ovarian epithelial tumours. *Anticancer Res.* 16, 91–97.
 61. Kohan-Ivani, K., Gabler, F., Selman, A., Vega, M., Romero, C., 2016. Role of dihydrotestosterone (DHT) on TGF- β 1 signaling pathway in epithelial ovarian cancer cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 142, 47–58. <https://doi.org/10.1007/s00432-015-1998-y>
 62. Kolomeyevskaya, N., Eng, K.H., Khan, A.N.H., Grzankowski, K.S., Singel, K.L., Moysich, K., Segal, B.H., 2015. Cytokine profiling of ascites at primary surgery identifies an interaction of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in predicting reduced progression-free survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 138, 352–357. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.05.009>
 63. Kono, M., Fujii, T., Lim, B., Karuturi, M.S., Tripathy, D., Ueno, N.T., 2017. Androgen Receptor Function and Androgen Receptor-Targeted Therapies in Breast Cancer: A Review. *JAMA Oncol.* 3, 1266. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.4975>
 64. Kurman, R.J., Shih, I.-M., 2011. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer - Shifting the paradigm. *Hum. Pathol.* 42, 918–931. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.03.003>
 65. Kurman, R.J., Shih, I.-M., 2010. The Origin and Pathogenesis of Epithelial Ovarian Cancer- a Proposed Unifying Theory. *Am. J. Surg. Pathol.* 34, 433–443. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181cf3d79>
 66. Kurman, R.J., Shih, I.-M., 2008. Pathogenesis of Ovarian Cancer: Lessons From Morphology and Molecular Biology and Their Clinical Implications. *Int. J. Gynecol. Pathol.* PAP. <https://doi.org/10.1097/PGP.0b013e318161e4f5>
 67. Labrie, F., 2015. Each tissue becomes master of its sex steroid environment at menopause. *Climacteric* 18, 764–765. <https://doi.org/10.3109/13697137.2015.1070477>
 68. Lee, P., Rosen, D.G., Zhu, C., Silva, E.G., Liu, J., 2005. Expression of progesterone receptor is a favorable prognostic marker in ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 96, 671–677. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2004.11.010>
 69. Levin, E.R., 2008. Rapid signaling by steroid receptors. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* 295, R1425–R1430. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90605.2008>
 70. Lheureux, S., Braunstein, M., Oza, A.M., 2019. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine. *CA. Cancer J. Clin.* <https://doi.org/10.3322/caac.21559>
 71. Lukacik, P., Kavanagh, K.L., Oppermann, U., 2006. Structure and function of human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol. Cell. Endocrinol.* 248, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.12.007>
 72. Lupu, R., Menendez, J.A., 2006. Targeting Fatty Acid Synthase in Breast and Endometrial Cancer: An Alternative to Selective Estrogen Receptor Modulators? *Endocrinology* 147, 4056–4066. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0486>
 73. Mahendra Dewi, I.G.A.S., Ekawati, N.P., 2020. The Association between Estrogen and Progesterone Receptors Expression with the Stages of Endometrioid-type Ovarian Carcinoma at Sanglah General Hospital, Bali, Indonesia: A Preliminary Study. *Open Access Maced. J. Med. Sci.* 8, 10–15. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.3097>
 74. Malek, A., Tchernitsa, O., 2013. *Ovarian Cancer: Methods and Protocols.* Humana Press.
 75. Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., Balkwill, F., 2008. Cancer-related inflammation. *Nature* 454, 436–444. <https://doi.org/10.1038/nature07205>
 76. Matsuoka, R., Yanaihara, A., Saito, H., Furusawa, Y., Toma, Y., Shimizu, Y., Yanaihara, T., Okai, T., 2002. Regulation of estrogen activity in human endometrium: effect of IL-1 β on steroid sulfatase activity in human endometrial stromal cells. *Steroids* 67, 655–659. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(02\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(02)00016-8)

77. McKenna, N.J., Lanz, R.B., O'Malley, B.W., 1999. Nuclear Receptor Coregulators: Cellular and Molecular Biology*. *Endocr. Rev.* 20, 321–344. <https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0366>
78. Michmerhuizen, A.R., Spratt, D.E., Pierce, L.J., Speers, C.W., 2020. ARe we there yet? Understanding androgen receptor signaling in breast cancer. *Npj Breast Cancer* 6. <https://doi.org/10.1038/s41523-020-00190-9>
79. Miller, W.L., 2008. Steroidogenic Enzymes, in: Flück, C.E., Miller, W.L. (Eds.), *Endocrine Development*. KARGER, Basel, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1159/000134751>
80. Miller, W.R., 1999. Biology of aromatase inhibitors: pharmacology/endocrinology within the breast. *Endocr. Relat. Cancer* 6, 187–195.
81. Mindnich, R., Möller, G., Adamski, J., 2004. The role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol. Cell. Endocrinol.* 218, 7–20. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.12.006>
82. Miyakawa, I., Kawano, Y., Taniyam, K., Mori, N., 1994. Steroid Sulfatase Activity in Human Leukocytes. *Gynecol. Obstet. Invest.* 38, 191–193. <https://doi.org/10.1159/000292477>
83. Modugno, F., Laskey, R., Smith, A.L., Andersen, C.L., Haluska, P., Oesterreich, S., 2012. Hormone response in ovarian cancer: time to reconsider as a clinical target? *Endocr. Relat. Cancer* 19, R255–R279. <https://doi.org/10.1530/ERC-12-0175>
84. Molenda, H.A., Kilts, C.P., Allen, R.L., Tetel, M.J., 2003. Nuclear Receptor Coactivator Function in Reproductive Physiology and Behavior1. *Biol. Reprod.* 69, 1449–1457. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.019364>
85. Morales-Vásquez, F., Castillo-Sánchez, R., Gómora, M.J., Almaraz, M.Á., Pedernera, E., Pérez-Montiel, D., Rendón, E., López-Basave, H.N., Román-Basaure, E., Cuevas-Covarrubias, S., Maldonado-Cubas, J., Villa, A., Mendez, C., 2020. Expression of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 is associated to the presence of androgen receptor in epithelial ovarian tumors. *J. Ovarian Res.* 13. <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00676-x>
86. Morales-Vásquez, F., Pedernera, E., Reynaga-Obregón, J., López-Basave, H.N., Gómora, M.J., Cardeña, E., Cárdenas, S., Silva-Ayala, R., Almaraz, M., Méndez, C., 2016. High levels of pretreatment CA125 are associated to improved survival in high grade serous ovarian carcinoma. *J. Ovarian Res.* 9. <https://doi.org/10.1186/s13048-016-0247-6>
87. Motohara, K., Tashiro, H., Taura, Y., Ohba, T., Katabuchi, H., 2010. Immunohistochemical analysis of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase isozymes in human ovarian surface epithelium and epithelial ovarian carcinoma. *Med. Mol. Morphol.* 43, 197–203. <https://doi.org/10.1007/s00795-009-0490-7>
88. MUAPOS working group (Multidisciplinary Unit of Abdominal Pelvic Oncology Surgery), Lluca, A., Serra, A., Rivadulla, I., Gomez, L., Escrig, J., 2018. Prediction of suboptimal cytoreductive surgery in patients with advanced ovarian cancer based on preoperative and intraoperative determination of the peritoneal carcinomatosis index. *World J. Surg. Oncol.* 16. <https://doi.org/10.1186/s12957-018-1339-0>
89. Mueller, J.W., Gilligan, L.C., Idkowiak, J., Artl, W., Foster, P.A., 2015. The Regulation of Steroid Action by Sulfation and Desulfation. *Endocr. Rev.* 36, 526–563. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1036>
90. Mulder, E., van Loon, D., de Boer, W., Schuurmans, A.L.G., Bolt, J., Voorhorst, M.M., Kuiper, G.G.J.M., Brinkmann, A.O., 1989. Mechanism of androgen action: Recent observations on the domain structure of androgen receptors and the induction of EGF-receptors by androgens in prostate tumor cells. *J. Steroid Biochem.* 32, 151–156. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(89\)90156-8](https://doi.org/10.1016/0022-4731(89)90156-8)
91. Mungenast, F., Aust, S., Vergote, I., Vanderstichele, A., Sehouli, J., Braicu, E., Mahner, S., Castillo-Tong, D.C., Zeillinger, R., Thalhammer, T., 2017. Clinical significance of the estrogen-modifying enzymes steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in epithelial ovarian cancer. *Oncol. Lett.* 13, 4047–4054. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5969>
92. Mungenast, F., Thalhammer, T., 2014. Estrogen Biosynthesis and Action in Ovarian Cancer. *Front. Endocrinol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00192>
93. Nakata, T., Takashima, S., Shiotsu, Y., Murakata, C., Ishida, H., Akinaga, S., Li, P.-K., Sasano, H., Suzuki, T., Saeki, T., 2003. Role of steroid sulfatase in local formation of estrogen in post-menopausal breast cancer patients. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 86, 455–460. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(03\)00357-1](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(03)00357-1)

94. Nilsson, B.-O., Olde, B., Leeb-Lundberg, L.F., 2011. G protein-coupled oestrogen receptor 1 (GPER1)/GPR30: a new player in cardiovascular and metabolic oestrogenic signalling: Cardiovascular and metabolic GPER1 functions. *Br. J. Pharmacol.* 163, 1131–1139. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01235.x>
95. Nodin, B., Zendeherkh, N., Br?ndstedt, J., Nilsson, E., Manjer, J., Brennan, D.J., Jirst?m, K., 2010. Increased androgen receptor expression in serous carcinoma of the ovary is associated with an improved survival. *J. Ovarian Res.* 3, 14. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-3-14>
96. Okuda, T., Saito, H., Sekizawa, A., Shimizu, Y., Akamatsu, T., Kushima, M., Yanaihara, T., Okai, T., Farina, A., 2001. Steroid Sulfatase Expression in Ovarian Clear Cell Adenocarcinoma: Immunohistochemical Study. *Gynecol. Oncol.* 82, 427–434. <https://doi.org/10.1006/gyno.2001.6322>
97. Olsen, C.M., Green, A.C., Nagle, C.M., Jordan, S.J., Whiteman, D.C., Bain, C.J., Webb, P.M., on behalf of the Australian Cancer Study Group (Ovarian Cancer) and the Australian Ovarian Cancer Study Group, 2008. Epithelial ovarian cancer: testing the “androgens hypothesis.” *Endocr. Relat. Cancer* 15, 1061–1068. <https://doi.org/10.1677/ERC-08-0075>
98. Olson, S.H., Bandera, E.V., Orlow, I., 2007. Variants in Estrogen Biosynthesis Genes, Sex Steroid Hormone Levels, and Endometrial Cancer: A HuGE Review. *Am. J. Epidemiol.* 165, 235–245. <https://doi.org/10.1093/aje/kwk015>
99. Pal, T., Permuth-Wey, J., Betts, J.A., Krischer, J.P., Fiorica, J., Arango, H., LaPolla, J., Hoffman, M., Martino, M.A., Wakeley, K., Wilbanks, G., Nicosia, S., Cantor, A., Sutphen, R., 2005. *BRCA1* and *BRCA2* mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases: *BRCA1* and *BRCA2* in Women with Ovarian Ca. *Cancer* 104, 2807–2816. <https://doi.org/10.1002/cncr.21536>
100. Papadimitriou, C.A., Markaki, S., Siapkarakas, J., Vlachos, G., Efstathiou, E., Grimani, I., Hamilos, G., Zorzou, M., Dimopoulos, M.-A., 2004. Hormonal Therapy with Letrozole for Relapsed Epithelial Ovarian Cancer. *Oncology* 66, 112–117. <https://doi.org/10.1159/000077436>
101. Pasqualini, J.R., Chetrite, G., Blacker, C., Feinstein, M.C., Delalonde, L., Talbi, M., Maloche, C., 1996. Concentrations of estrone, estradiol, and estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 1460–1464. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.4.8636351>
102. Patel, B., Elguero, S., Thakore, S., Dahoud, W., Bedaiwy, M., Mesiano, S., 2015. Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Hum. Reprod. Update* 21, 155–173. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmu056>
103. Payne, A.H., Hales, D.B., 2004. Overview of Steroidogenic Enzymes in the Pathway from Cholesterol to Active Steroid Hormones. *Endocr. Rev.* 25, 947–970. <https://doi.org/10.1210/er.2003-0030>
104. Pedernera, E., Gómora, M.J., Morales-Vásquez, F., Pérez-Montiel, D., Mendez, C., 2019. Progesterone reduces cell survival in primary cultures of endometrioid ovarian cancer. *J. Ovarian Res.* 12. <https://doi.org/10.1186/s13048-019-0486-4>
105. Pereira, A., Pérez-Medina, T., Magrina, J.F., Magtibay, P.M., Rodríguez-Tapia, A., Peregrin, I., Mendizabal, E., Ortiz-Quintana, L., 2015. International Federation of Gynecology and Obstetrics Staging Classification for Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, and Peritoneum: Estimation of Survival in Patients With Node-Positive Epithelial Ovarian Cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* 25, 49–54. <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000000316>
106. Porter, B.A., Ortiz, M.A., Bratslavsky, G., Kotula, L., 2019. Structure and Function of the Nuclear Receptor Superfamily and Current Targeted Therapies of Prostate Cancer. *Cancers* 11, 1852. <https://doi.org/10.3390/cancers11121852>
107. Prat, J., 2017a. Pathology of borderline and invasive cancers. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 41, 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.08.007>
108. Prat, J., 2017b. Pathology of borderline and invasive cancers. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 41, 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.08.007>
109. Prat, J., 2012. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch.* 460, 237–249. <https://doi.org/10.1007/s00428-012-1203-5>

110. Purohit, A., Woo, L.W.L., Potter, B.V.L., 2011. Steroid sulfatase: A pivotal player in estrogen synthesis and metabolism. *Mol. Cell. Endocrinol.* 340, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.06.012>
111. Reed, M.J., Purohit, A., Woo, L.W.L., Newman, S.P., Potter, B.V.L., 2005. Steroid Sulfatase: Molecular Biology, Regulation, and Inhibition. *Endocr. Rev.* 26, 171–202. <https://doi.org/10.1210/er.2004-0003>
112. Ren, X., Wu, X., Hillier, S.G., Fegan, K.S., Critchley, H.O.D., Mason, J.I., Sarvi, S., Harlow, C.R., 2015. Local estrogen metabolism in epithelial ovarian cancer suggests novel targets for therapy. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 150, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.03.010>
113. Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
114. Rižner, T.L., 2016a. The Important Roles of Steroid Sulfatase and Sulfotransferases in Gynecological Diseases. *Front. Pharmacol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00030>
115. Rižner, T.L., 2016b. The Important Roles of Steroid Sulfatase and Sulfotransferases in Gynecological Diseases. *Front. Pharmacol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00030>
116. Rose, S.L., Robertson, A.D., Goodheart, M.J., Smith, B.J., DeYoung, B.R., Buller, R.E., 2003. The impact of p53 protein core domain structural alteration on ovarian cancer survival. *Clin. Cancer Res.* 9, 4139–4144.
117. Salehi, F., Dunfield, L., Phillips, K.P., Krewski, D., Vanderhyden, B.C., 2008. Risk Factors for Ovarian Cancer: An Overview with Emphasis on Hormonal Factors. *J. Toxicol. Environ. Health Part B* 11, 301–321. <https://doi.org/10.1080/10937400701876095>
118. Sapiezynski, J., Taratula, O., Rodriguez-Rodriguez, L., Minko, T., 2016. Precision targeted therapy of ovarian cancer. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* 243, 250–268. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.10.014>
119. Schiffer, L., Barnard, L., Baranowski, E.S., Gilligan, L.C., Taylor, A.E., Art, W., Shackleton, C.H.L., Storbeck, K.-H., 2019. Human steroid biosynthesis, metabolism and excretion are differentially reflected by serum and urine steroid metabolomes: A comprehensive review. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 194, 105439. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105439>
120. Schüler, S., Ponnath, M., Engel, J., Ortmann, O., 2013. Ovarian epithelial tumors and reproductive factors: A systematic review. *Arch. Gynecol. Obstet.* 287, 1187–1204. <https://doi.org/10.1007/s00404-013-2784-1>
121. Schüler-Toprak, S., Weber, F., Skrzypczak, M., Ortmann, O., Treeck, O., 2018. Estrogen receptor β is associated with expression of cancer associated genes and survival in ovarian cancer. *BMC Cancer* 18. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4898-0>
122. Sever, R., Glass, C.K., 2013. Signaling by Nuclear Receptors. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 5, a016709–a016709. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016709>
123. Shao, Z., 2011. Dihydrotestosterone induces p27 degradation via direct binding with SKP2 in ovarian and breast cancer. *Int. J. Mol. Med.* <https://doi.org/10.3892/ijmm.2011.677>
124. Shih, I.-M., Wang, Y., Wang, T.-L., 2020. The Origin of Ovarian Cancer Species and Precancerous Landscape. *Am. J. Pathol.* <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.09.006>
125. Sieh, W., Köbel, M., Longacre, T.A., Bowtell, D.D., deFazio, A., Goodman, M.T., Høgdall, E., Deen, S., Wentzensen, N., Moysich, K.B., Brenton, J.D., Clarke, B.A., Menon, U., Gilks, C.B., Kim, A., Madore, J., Fereday, S., George, J., Galletta, L., Lurie, G., Wilkens, L.R., Carney, M.E., Thompson, P.J., Matsuno, R.K., Kjær, S.K., Jensen, A., Høgdall, C., Kalli, K.R., Fridley, B.L., Keeney, G.L., Vierkant, R.A., Cunningham, J.M., Brinton, L.A., Yang, H.P., Sherman, M.E., García-Closas, M., Lissowska, J., Odunsi, K., Morrison, C., Lele, S., Bshara, W., Sucheston, L., Jimenez-Linan, M., Driver, K., Alsop, J., Mack, M., McGuire, V., Rothstein, J.H., Rosen, B.P., Bernardini, M.Q., Mackay, H., Oza, A., Wozniak, E.L., Benjamin, E., Gentry-Maharaj, A., Gayther, S.A., Tinker, A.V., Prentice, L.M., Chow, C., Anglesio, M.S., Johnatty, S.E., Chenevix-Trench, G., Whittemore, A.S., Pharoah, P.D.P., Goode, E.L., Huntsman, D.G., Ramus, S.J., 2013. Hormone-receptor expression and ovarian cancer survival: An Ovarian Tumor Tissue Analysis consortium study. *Lancet Oncol.* 14, 853–862. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70253-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70253-5)
126. Smith, D., Stewart, C.J.R., Clarke, E.M., Lose, F., Davies, C., Armes, J., Obermair, A., Brennan, D., Webb, P.M., Nagle, C.M., Spurdle, A.B., 2018. ER and PR expression and survival after endometrial cancer.

- Gynecol. Oncol. 148, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.11.027>
127. Song, K., Wang, H., Krebs, T.L., Kim, S.-J., Danielpour, D., 2008. Androgenic Control of Transforming Growth Factor- Signaling in Prostate Epithelial Cells through Transcriptional Suppression of Transforming Growth Factor- Receptor II. *Cancer Res.* 68, 8173–8182. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2290>
 128. Spillman, M.A., Manning, N.G., Dye, W.W., Sartorius, C.A., Post, M.D., Harrell, J.C., Jacobsen, B.M., Horwitz, K.B., 2010. Tissue-Specific Pathways for Estrogen Regulation of Ovarian Cancer Growth and Metastasis. *Cancer Res.* 70, 8927–8936. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1238>
 129. Stack, M.S., Fishman, D.A. (Eds.), 2010. *Ovarian Cancer, Cancer Treatment and Research.* Springer US, Boston, MA.
 130. Strauss, J.F., Barbieri, R.L., 2013. *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology.* Elsevier Health Sciences.
 131. Sultan, C., Lumbroso, S., Poujol, N., Belon, C., Boudon, C., Lobaccaro, J.-M., 1993. Mutations of androgen receptor gene in androgen insensitivity syndromes. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 46, 519–530. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(93\)90178-Y](https://doi.org/10.1016/0960-0760(93)90178-Y)
 132. Suzuki, T., Miki, Y., Nakamura, Y., Ito, K., Sasano, H., 2011. Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human carcinomas. *Mol. Cell. Endocrinol.* 340, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.11.001>
 133. Syed, V., Ho, S.-M., 2003. Progesterone-induced apoptosis in immortalized normal and malignant human ovarian surface epithelial cells involves enhanced expression of FasL. *Oncogene* 22, 6883–6890. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206828>
 134. Szajnik, M., Szczepanski, M.J., Elishaev, E., Visus, C., Lenzner, D., Zabel, M., Glura, M., DeLeo, A.B., Whiteside, T.L., 2012. 17 β hydroxysteroid dehydrogenase type 12 (HSD17B12) is a marker of poor prognosis in ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 127, 587–594. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.08.010>
 135. Tan, M.E., Li, J., Xu, H.E., Melcher, K., Yong, E., 2015. Androgen receptor: structure, role in prostate cancer and drug discovery. *Acta Pharmacol. Sin.* 36, 3–23. <https://doi.org/10.1038/aps.2014.18>
 136. Testa, U., Petrucci, E., Pasquini, L., Castelli, G., Pelosi, E., 2018. Ovarian Cancers: Genetic Abnormalities, Tumor Heterogeneity and Progression, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Medicines* 5, 16. <https://doi.org/10.3390/medicines5010016>
 137. Torres-Sánchez, L.E., Rojas-Martínez, R., Escamilla-Núñez, C., Vara-Salazar, E. de la, Lazcano-Ponce, E., 2014. Tendencias en la mortalidad por cáncer en México de 1980 a 2011. *Salud Pública México* 56, 473–491.
 138. Treeck, O., Pfeiler, G., Mitter, D., Latruch, C., Piendl, G., Ortmann, O., 2007. Estrogen receptor β 1 exerts antitumoral effects on SK-OV-3 ovarian cancer cells. *J. Endocrinol.* 193, 421–433. <https://doi.org/10.1677/JOE-07-0087>
 139. Troisi, R., Bjørge, T., Gissler, M., Grotmol, T., Kitahara, C.M., Saether, S.M.M., Ording, A.G., Sköld, C., Sørensen, H.T., Trabert, B., Glimelius, I., 2018. The Role of Pregnancy, Perinatal Factors, and Hormones in Maternal Cancer Risk: A review of the evidence. *J. Intern. Med.* <https://doi.org/10.1111/joim.12747>
 140. Vajaria, R., Vasudevan, N., 2018. Is the membrane estrogen receptor, GPER1, a promiscuous receptor that modulates nuclear estrogen receptor-mediated functions in the brain? *Horm. Behav.* 104, 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.06.012>
 141. Vang, R., Shih, I.-M., Kurman, R.J., 2009. Ovarian Low-grade and High-grade Serous Carcinoma: Pathogenesis, Clinicopathologic and Molecular Biologic Features, and Diagnostic Problems. *Adv. Anat. Pathol.* 16, 267–282. <https://doi.org/10.1097/PAP.0b013e3181b4fffa>
 142. Walker, G., MacLeod, K., Williams, A.R.W., Cameron, D.A., Smyth, J.F., Langdon, S.P., 2007. Estrogen-regulated gene expression predicts response to endocrine therapy in patients with ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 106, 461–468. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2007.05.009>
 143. Walters, K.A., 2015. Role of androgens in normal and pathological ovarian function. *REPRODUCTION* 149, R193–R218. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0517>
 144. Wang, C., Tran, D.A., Fu, M.Z., Chen, W., Fu, S.W., Li, X., 2020. Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, and HER2 Receptor Markers in Endometrial Cancer. *J. Cancer* 11, 1693–1701. <https://doi.org/10.7150/jca.41943>

145. Wang, X., Docanto, M.M., Sasano, H., Kathleen Cuningham Consortium for Research into Familial Breast Cancer, Lo, C., Simpson, E.R., Brown, K.A., 2015. Prostaglandin E2 Inhibits p53 in Human Breast Adipose Stromal Cells: A Novel Mechanism for the Regulation of Aromatase in Obesity and Breast Cancer. *Cancer Res.* 75, 645–655. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-2164>
146. Wang, Y., Ma, J., Shen, H., Wang, C., Sun, Y., Howell, S.B., Lin, X., 2014. Reactive oxygen species promote ovarian cancer progression via the HIF-1 α /LOX/E-cadherin pathway. *Oncol. Rep.* 32, 2150–2158. <https://doi.org/10.3892/or.2014.3448>
147. Wang, Y., Yang, J., Gao, Y., Dong, L.J., Liu, S., Yao, Z., 2007. Reciprocal regulation of 5 α -dihydrotestosterone, Interleukin-6 and interleukin-8 during proliferation of epithelial ovarian carcinoma. *Cancer Biol. Ther.* 6, 864–871. <https://doi.org/10.4161/cbt.6.6.4093>
148. Wiegand, K.C., Shah, S.P., Al-Agha, O.M., Zhao, Y., Tse, K., Zeng, T., Senz, J., McConechy, M.K., Anglesio, M.S., Kalloger, S.E., Yang, W., Heravi-Moussavi, A., Giuliany, R., Chow, C., Fee, J., Zayed, A., Prentice, L., Melnyk, N., Turashvili, G., Delaney, A.D., Madore, J., Yip, S., McPherson, A.W., Ha, G., Bell, L., Fereday, S., Tam, A., Galletta, L., Tonin, P.N., Provencher, D., Miller, D., Jones, S.J.M., Moore, R.A., Morin, G.B., Oloumi, A., Boyd, N., Aparicio, S.A., Shih, I.-M., Mes-Masson, A.-M., Bowtell, D.D., Hirst, M., Gilks, B., Marra, M.A., Huntsman, D.G., 2010a. ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. *N. Engl. J. Med.* 363, 1532–1543. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1008433>
149. Wiegand, K.C., Shah, S.P., Al-Agha, O.M., Zhao, Y., Tse, K., Zeng, T., Senz, J., McConechy, M.K., Anglesio, M.S., Kalloger, S.E., Yang, W., Heravi-Moussavi, A., Giuliany, R., Chow, C., Fee, J., Zayed, A., Prentice, L., Melnyk, N., Turashvili, G., Delaney, A.D., Madore, J., Yip, S., McPherson, A.W., Ha, G., Bell, L., Fereday, S., Tam, A., Galletta, L., Tonin, P.N., Provencher, D., Miller, D., Jones, S.J.M., Moore, R.A., Morin, G.B., Oloumi, A., Boyd, N., Aparicio, S.A., Shih, I.-M., Mes-Masson, A.-M., Bowtell, D.D., Hirst, M., Gilks, B., Marra, M.A., Huntsman, D.G., 2010b. ARID1A Mutations in Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas. *N. Engl. J. Med.* 363, 1532–1543. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1008433>
150. Wu, X., Lukacik, P., Kavanagh, K.L., Oppermann, U., 2007. SDR-type human hydroxysteroid dehydrogenases involved in steroid hormone activation. *Mol. Cell. Endocrinol.* 265–266, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.12.006>
151. Wu, Y., Tang, L., Azabdaftari, G., Pop, E., Smith, G.J., 2019. Adrenal androgens rescue prostatic dihydrotestosterone production and growth of prostate cancer cells after castration. *Mol. Cell. Endocrinol.* 486, 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.02.018>
152. Yu, H.-C., Lin, C.-Y., Chang, W.-C., Shen, B.-J., Chang, W.-P., Chuang, C.-M., 2015. Increased Association Between Endometriosis and Endometrial Cancer: A Nationwide Population-Based Retrospective Cohort Study. *Int. J. Gynecol. Cancer* 25, 447–452. <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000000384>
153. Zeppernick, F., Meinhold-Heerlein, I., 2014. The new FIGO staging system for ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer. *Arch. Gynecol. Obstet.* 290, 839–842. <https://doi.org/10.1007/s00404-014-3364-8>
154. Zhu, H., Zhu, Xuejie, Zheng, L., Hu, X., Sun, L., Zhu, Xueqiong, 2017. The role of the androgen receptor in ovarian cancer carcinogenesis and its clinical implications. *Oncotarget* 8, 29395–29405. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12561>
155. Zhu, T., Yuan, J., Xie, Y., Li, H., Wang, Y., 2016. Association of androgen receptor CAG repeat polymorphism and risk of epithelial ovarian cancer. *Gene* 575, 743–746. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.09.054>
156. http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018_nal.pdf

Anexos

Este protocolo de investigación fue aprobado por los Comités de Ética de cada una de las Instituciones participantes.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
ESTADO LIBRE Y SOBERANO DE GUERRERO
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN
COMISIONES DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA
OFICIO NO. FMED/CI/SPLR/109/2015

ASUNTO: Dictamen de proyecto 108-2015

Dr. Enrique Antonio Pedernera Astegiano
 Profesor Titular "C" T.C.
 Departamento de Embriología
 Facultad de Medicina
 Presente.

Estimado doctor Pedernera Astegiano:

Me complace informarle que su proyecto número 108/2015 "**Metabolismo de los esteroides sexuales en el cáncer epitelial de ovario**" ha sido **APROBADO** por las Comisiones de Investigación y Ética de esta Facultad de Medicina, en su sesión extraordinaria a de fecha 18 de agosto de 2015, con vigencia de 3 años a partir de la fecha de aprobación.

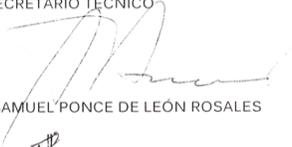
Para conocer el seguimiento de esta investigación, es necesario que entregue un informe anual, en la División de Investigación de esta Facultad, tomando en cuenta esta fecha de elaboración del dictamen.

Asimismo, le solicitamos atentamente nos envíe una copia del o los artículos y/o copia de la carátula y resumen de las tesis que pudieran generarse relacionadas con el proyecto.

Sin otro particular de momento, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 Ciudad Universitaria, D.F., a 18 de agosto de 2015.

EL SECRETARIO TÉCNICO



DR. SAMUEL PONCE DE LEÓN ROSALES

*SPLR/SCM/ETF bap





SECRETARÍA DE LA DEFENSA NACIONAL HOSPITAL MILITAR DE ESPECIALIDADES DE LA MUJER Y NEONATOLOGÍA

DEPENDENCIA: HOSPITAL MILITAR DE ESPECIALIDADES DE LA MUJER Y NEONATOLOGÍA. SECCIÓN: ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN. MESA: TRAMITE. NUM. OFICIO: 310/18 EXPEDIENTE:

ASUNTO: Se autoriza Proyecto de Investigación.

Lomas de Sotelo, CD. MÉX., a 5 de noviembre de 2018.

Doctora María del Carmen Méndez Herrera Facultad de Medicina UNAM Cd. de México.

Por medio del presente, se hace de su conocimiento que los Comités de Investigación e Investigación y Ética del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología, autorizan realizar el Proyecto de Investigación "PARTICIPACIÓN DE LOS ESTEROIDES SULFATADOS EN EL CÁNCER EPITELIAL DE OVARIO", en este Hospital.

Agradeciéndole remitir al Departamento de Enseñanza e Investigación los días 30 de cada mes, informe de los avances del Proyecto en mención, hasta el término del mismo.

Atentamente. Sufragio efectivo. No reelección. Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología Cor. M.C. Antonio Carvajal Gómez

CAL-mcg.



SALUD

SECRETARÍA DE SALUD

CEI: dom. Av. San Fernando 2, Puerta 1
Col. Barrio del Niño Jesús,
Tlalpan, D.F. C.P. 14080



2019

AÑO DEL CASTILLO DEL SUR
EMILIANO ZAPATA



Instituto Nacional de Cancerología

Comité de Ética en Investigación
Gestión 2019-2022
Registrado ante COFEPRIS 12 CEI 09 014 11
Registrado ante CONBIOÉTICA-09-CEI-002-20160413
Office For Human Research Protections (OHRP)
IORG0006100
IRB00007348
FWA00019235

No protocolo: CEI/1371/19
No. Ref. INCAN/CEI/1012/19
DÉCIMA CUARTA SESIÓN ORDINARIA
31 de octubre, 2019.

Dra. Flavia Morales Vásquez.
Investigador Principal

Presente.

En relación al protocolo: "**Participación de los esteroides sulfatados en el Cáncer Epitelial de ovario: Expresión de la Sulfatasa de esteroides y la Sulfotransferasa**" (019/060/OMI)(CEI/1371/19). El Comité de Ética en Investigación reviso y aprobó la siguiente documentación:

- > Formato Único de Protocolo, versión 9.0 de fecha 20 de mayo 2019 en español.
- > Consentimiento Informado, versión 10 de fecha 21 de octubre de 2019 en español.

Esta documentación cumple con todos los requisitos por lo que el Comité de Ética en Investigación puede proceder con su aprobación. Esta aprobación tiene una vigencia hasta el 31 de octubre del 2020. Por lo que en caso necesario le solicitamos atentamente someter su renovación anual antes de esta fecha, junto con un informe de los resultados obtenidos. También será necesario informar al comité cualquier información derivada del estudio que deba ser informada a los participantes. De acuerdo con los lineamientos de regulación interno, buenas prácticas clínicas y políticas de operación del Comité de Ética en Investigación del INCAN, es indispensable hacer de su conocimiento que cualquier miembro de los comités que participa en un proyecto de investigación NO tiene VOZ ni Voto en las resoluciones acerca del estudio. (Se requiere informe de los avances "status" de eventos adversos y enmiendas de manera semestral).

Atentamente

Dra. Myrna G. Candelaria Hernández
Presidente del Comité de Ética en Investigación.



SALUD

SECRETARÍA DE SALUD

CEI: dom. Av. San Fernando 2, Puerta 1
Col. Barrio del Niño Jesús,
Tlalpan, D.F. C.P. 14080



2019

AMÉRICA LATINA
EMILIANO ZAPATA



Instituto Nacional de Cancerología

Comité de Ética en Investigación
Gestión 2019-2022
Registrado ante COFEPRIS 12 CEI 09 014 11
Registrado ante CONBIOÉTICA-09-CEI-002-20160413
Office For Human Research Protections (OHRP)
IORG0006100
IRB00007348
FWA00019235

No protocolo: CEI/1371/19
No. Ref. INCAN/CEI/1012/19
DÉCIMA CUARTA SESIÓN ORDINARIA
31 de octubre, 2019.

Dra. Flavia Morales Vásquez.
Investigador Principal

Presente.

En relación al protocolo: "Participación de los esteroides sulfatados en el Cáncer Epitelial de ovario: Expresión de la Sulfatasa de esteroides y la Sulfotransferasa" (019/060/OMI)(CEI/1371/19). Se extiende la presente donde se hace constar que el Comité de Ética en Investigación de Instituto Nacional de Cancerología se rige bajo los lineamientos estipulados por la Comisión Nacional de Bioética, los criterios de armonización Internacional y las guías de buenas prácticas clínicas.

Atentamente

Dra. Myrna G. Candelaria Hernández
Presidente del Comité de Ética en Investigación.



2019
AÑO DEL CAUDELLO DEL SUR
EMILIANO ZAPATA



Institut

**Comité de Ética en Investigación
Gestión 2019-2022**
Registrado ante COFEPRIS 12 CEI 09 014 11
Registrado ante CONBIOETICA-09-CEI-002-20160413
Office For Human Research Protections (OHRP)
IORG0006100
IRB00007348
FWA00019235



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO



COMISIONES DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA

OFICIO NO. FMEDI/CI/RGG/071/2019

ASUNTO: Dictamen Proyecto FM/DI/016/2019

Dra. María del Carmen Méndez Herrera
Profesor Titular "B" T.C.
Departamento de Embriología
Presente.

Estimada doctora Méndez Herrera:

Me complace informarle que su proyecto **FM/DI/016/2019** de título "**Asociación del receptor de andrógenos y la sulfatasa de esteroides con la expresión de las metaloproteinasas de matriz 2 y 9 en carcinomas de ovario**" ha sido revisado y **APROBADO** por las Comisiones de Investigación y de Ética en sesión ordinaria de fecha **04 de junio de 2019**, con una vigencia de 3 años a partir de la fecha de la sesión.

Deberá ejecutar el proyecto de acuerdo a lo especificado en el protocolo, tanto en los aspectos metodológicos como en los aspectos éticos y notificar cualquier modificación o enmienda al mismo. Por otro lado para conocer el seguimiento de esta investigación, es necesario que entregue un informe anual en la División de Investigación de esta Facultad, tomando en cuenta esta fecha de elaboración del dictamen. Asimismo le solicitamos nos envíe una copia del o los artículos y/o copia de la carátula y resumen de las tesis que pudieran generarse relacionadas con el proyecto.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 04 de junio de 2019.

LA SECRETARIA TÉCNICA


DRA. ROSALINDA GUEVARA GUZMÁN
*RGG/ETF



Comité de Investigación de la Facultad de Medicina-UNAM, con fecha 01 de Junio de 2015, se expide Registro COFEPRIS
Número: 15 CI 09 003 021

Protocolo de procesamiento de muestras de tejidos para histología Inclusión en parafina

El volumen del fijador debe de ser de 10 a 15 veces mayor al tejido (de 10-15 mL por cada gramo de tejido).

Lo recomendable para el grosor del tejido debe de ser de 2.5 mm hasta 8 mm.

- ETOH 30% durante 1h
- ETOH 40% durante 1h
- ETOH 50% durante 1h
- ETOH 60% durante 1h
- ETOH 70% durante 1h
- ETOH 80% durante 1h
- ETOH 90% durante 1h
- ETOH absoluto 1h
- ETOH absoluto durante 1h
- Xilol 1h
- Xilol 1h

1.- El tejido se fija con Paraformaldehído al 4% durante toda la noche a 4°C (la fijación del tejido no debe de pasar de 48h).

2.- Se lava la muestra con PBS 5 veces durante 20 min.

3.- Se inicia la Deshidratación del tejido con alcoholes graduales de la siguiente manera:

4.- Para la inclusión de la muestra se utiliza Parafina 1 durante 1h. La parafina debe de estar a 56 °C.

5.- Se continúa la inclusión con Parafina 2 durante 1h.

6.- Para la Inclusión final se coloca la muestra en casetes de plástico y moldes de metal. 7.- Se identifican los bloques con el número de muestra y expediente.

8.- Se enfrían los moldes 30 min en una base fría para posteriormente poder separar los moldes del bloque de parafina.

9.- Se almacenan los bloques a 4°C en la caja asignada

**Inmunofluorescencia para la detección de las enzimas
STS, Aromatasa y 17- β HSD**

Desparafinar 1hra a 56°C (previamente desparafinados)

Xilol 30min

• Etanol en las siguientes concentraciones :

• 100% (1) -3min

• 100% (2) -3min

• 96% -3min

• 70% -3min

• 50% -3min

• 30% -3min

• Agua Destilada -3min

• PBS -3min

Desenmarcar/desenmascarar antígenos en olla convencional BIOCARE con buffer de citratos con pH de 6 (Diva Decloakevcat) durante 12min hasta que alcance 25 mmHg (ponerlo en agua milliQ).

Lavar con PBS 3 veces durante 5 min cada vez.

Fijar con PFA (paraformaldehído) 2% por 15 minutos

Lavar con PBS 3 veces durante 5min cada vez.

Incubar con PBS Tritón al 1% durante 25min.

Lavar con PBS 3 veces durante 5 min cada vez.

Incubar con suero de caballo al 5% durante 30 minutos.

Lavar con PBS sólo una vez por 5 minutos.

Incubar con anticuerpo primario durante toda la noche a TA o durante 1h a 37°C

Lavar 3 veces con PBS durante 5 min cada uno.

Incubar con anticuerpo secundario Anti-Rabbit Cy3 y Anti-Mouse Alexa 647

Lavar con PBS 3 veces durante 5min cada uno.

Incubar con Dapi por 3 minutos.

Lavar con PBS 3 veces durante 5min cada uno.

Montar con resina VECTSHIELD H-100